

UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA

**INSTITUTO DE NUTRICIÓN Y TECNOLOGÍA DE LOS
ALIMENTOS “JOSÉ MATAIX”**



**“ESTUDIO DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES
QUE SIGUEN O NO UN PROGRAMA DE
REHABILITACIÓN CARDIACA”**

TESIS DOCTORAL

Aurora Soledad Ramos Mejías

Granada, 2014

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: Aurora Soledad Ramos Mejías
D.L.: GR 2087-2014
ISBN: 978-84-9083-120-5

**MEMORIA QUE PRESENTA LA LDA. AURORA
SOLEDAD RAMOS MEJÍAS PARA ASPIRAR AL GRADO
DE DOCTOR POR LA UNIVERSIDAD DE GRANADA**

**ESTA TESIS DOCTORAL HA SIDO REALIZADA BJO LA
DIRECCIÓN DE:**

Prof. Dra. María Teresa Nestares Pleguezuelo

Prof. Dr. Javier Diaz Castro

Prof. Dr. Julio José Ochoa Herrera

**Lda. Aurora Soledad Ramos Mejías
Granada, 2014**

Abreviaturas

ADNmt	ADN mitocondrial
AHA	Asociación Americana del Corazón
CAT	Catalasa
CI	Cardiopatía Isquémica
CV	Cardiovascular
DHA	Ácido graso docosaexaenóico
EC	Enfermedad coronaria
ECV	Enfermedad Cardiovascular
ECVs	Enfermedades cardiovasculares
EPA	Ácido graso Eicosapentaenoico
ERO	Especies Reactivas de Oxígeno
FESNAD	Federación Española de Sociedades de Nutrición, Alimentación y Dietética
GPx	Glutation Peroxidasa
HTA	Hipertensión Arterial
IAM	Infarto Agudo de Miocardio
IC	Insuficiencia Cardíaca
IMC	Índice de Masa Corporal
IPAQ	Cuestionario Internacional de Actividad Física
MDA	Malondialdehído
NHLBI	Instituto Nacional de los Pulmones, el Corazón y la Sangre de los Estados Unidos
OMS	Organización Mundial de la Salud
PCR	Proteína C Reactiva
PRC	Programa de Rehabilitación Cardíaca
SEA	Sociedad española de aterosclerosis
SEEDO	Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad
SOD	Superoxido Dismutasa
TBARs	Especies Reactivas al ácido tiobarbitúrico
TG	Triglicéridos
VO₂	Consumo de Oxígeno

Índice

Índice	9
Compromiso de respeto de los derechos de autor	13
Resumen	15
1.Introducción	17
1.1.Epidemiología de las enfermedades cardiovasculares	18
1.2.Definición y fisiopatología de las enfermedades cardiovasculares	20
1.3.Aterosclerosis	21
1.3.1. Desarrollo de la aterosclerosis	22
1.4.Factores de riesgo de las enfermedades cardiovasculares	23
1.4.1.Clasificación de los factores de riesgo en causales, condicionales y predisponentes	23
1.4.2.Clasificación de los factores de riesgo en modificables y no modificables	24
1.4.2.1.Factores de riesgo no modificables	24
1.4.2.2.Factores de riesgo modificables	25
1.5.Enfermedad cardiovascular y estrés oxidativo	31
1.5.1.Estrés oxidativo	31
1.5.2.Tipos de oxidantes	34
1.5.3.Formación de radicales libres	37
1.5.4.Reacciones de los radicales libres	40
1.5.5.Sistema de defensa antioxidante	40
1.5.6.Relación entre el estrés oxidativo y las enfermedades cardiovasculares	43
1.5.7.Parametros de estrés oxidativo determinados en la presente memoria y su relación con las enfermedades cardiovasculares	47
1.6.Enfermedad cardiovascular, dieta y estrés oxidativo	53
1.6.1.Influencia de la dieta en el estrés oxidativo	57
1.7.Enfermedad cardiovascular, ejercicio y estrés oxidativo	59
1.7.1.Ejercicio físico y estrés oxidativo	61
	62

1.8.Prevencción cardiovascular	
2.Objetivos	69
3.Metodología	71
3.1.Descripción de la muestra	72
3.1.1.Edad	74
3.2.Programa de rehabilitación cardiaca	75
3.2.1.Descripción del programa de rehabilitación cardiaca	75
3.2.2.Ejercicio desarrollado en el programa de rehabilitación cardiaca	75
3.3.Estudio cínico y funcional	77
3.3.1.Control de parámetros hematológicos y bioquímicos	77
3.3.2.Estudio antropométrico	78
3.3.3.Estudio clínico	79
3.4.Estudio del estrés oxidativo	79
3.4.1.Determinación de especies reactivas del ácido tiobarbitúrico	79
3.4.2.Actividad de catalasa	81
3.4.3.Actividad de superóxido dismutasa	83
3.4.4.Actividad de glutatión peroxidasa	85
3.4.5.Determinación cuantitativa de proteínas	86
3.5.Análisis estadístico	87
4.Resultados	89
4.1.Resultado de la encuesta de datos personales y hábitos de vida	90
4.1.1.Influencia de la edad en la realización del PRC	90
4.1.2.Conocimiento de los factores de riesgo cardiovascular	91
4.1.3.Medidas tomadas para mejorar la salud cardiovascular	91
4.2.Resultados de los análisis bioquímicos realizados en sangre	92
4.2.1.Glucemia basal	93
4.2.2.Triglicéridos	94
4.2.3.Colesterol	95
4.2.3.1. Colesterol total	95
4.2.3.2.Colesterol LDL	96
4.3.Resultados clínicos relacionados con la antropometría y otras medidas__	98
4.3.1.Índice de masa corporal	98
4.3.2.Presión arterial	101

4.4.Resultados de la determinación de parámetros relacionados con el estrés oxidativo	102
4.4.1.Resultados de la determinación de especies reactivas del ácido tiobarbitúrico (TBARs) en plasma	102
4.4.2.Resultados de la medida de la actividad de la catalasa	104
4.4.3.Resultados de la medida de la actividad de la Superóxido dismutasa	105
4.4.4.Resultados de la medida de la actividad de la Glutación peroxidada	106
5.Discusión	107
5.1.Muestra poblacional estudiada. Encuesta de datos personales y hábitos de vida	108
5.1.1.Participación de los pacientes en el PRC	108
5.1.2.Edad	110
5.1.3.Conocimiento del riesgo cardiovascular y medidas adoptadas	111
5.2.Bioquímica	113
5.2.1.Glucemia basal	113
5.2.2.Triglicéridos	114
5.2.3.Colesterol total	115
5.3.Resultados clínicos relacionados con la antropometría y otras medidas	117
5.3.1.Índice de masa corporal	117
5.3.2.Presión arterial	118
5.4.Estrés oxidativo	120
5.4.1.Peroxidación lipídica (TBARs)	120
5.4.2.Actividad enzimática de catalasa	125
5.4.3.Actividad enzimática de superóxido dismutasa	128
5.4.4.Actividad enzimática de Glutation Peroxidasa	130
6.Conclusiones	133
7.Bibliografía	139

El doctorando Aurora Soledad Ramos Mejias y los directores de la tesis Garantizamos, al firmar esta tesis doctoral, que el trabajo ha sido realizado por el doctorando bajo la dirección de los directores de la tesis y hasta donde nuestro conocimiento alcanza, en la realización del trabajo, se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

<lugar> <fecha>

Director/es de la Tesis

Doctorando

Fdo.:

Fdo.:

Resumen

La investigación llevada a cabo se centra en un estudio de la valoración clínica, bioquímica, y del estrés oxidativo, de sujetos que han sufrido un evento cardiovascular y que pertenecen a la Asociación de Pacientes Cardíacos de Granada y Provincia (miembro de la Federación Andaluza de Asociaciones de Enfermos del Corazón).

Los sujetos se dividieron en 2 grupos, de forma no aleatoria, según quisieran o no formar parte de un Programa de Rehabilitación Cardíaca. Al inicio del estudio se llevó a cabo una entrevista personal con cada uno de los sujetos y, a los que cumplían los criterios de inclusión, se les invitó a participar en el mismo, de forma que el asistir o no al programa de rehabilitación depende de la propia iniciativa de los sujetos tras ser debidamente informados.

Tras 12 meses de seguimiento del Programa de Rehabilitación, se llevó a cabo la valoración clínica, bioquímica y del estrés oxidativo, así como los cuestionarios sobre hábitos de vida, ingesta dietética y tipo de actividad física diaria. La finalidad de estas encuestas es realizar un control de los factores de riesgo relacionados con la patología cardiovascular. Además, se realizó una toma de sangre a cada sujeto para realizar estudio hematológico, bioquímico y del estrés oxidativo.

1. Introducción

1.1. Epidemiología de las enfermedades cardiovasculares.

Las enfermedades cardiovasculares (ECVs) constituyen uno de los mayores problemas de salud en todo el mundo, ya que a su importancia en los países desarrollados se une su creciente prevalencia en los países en vías de desarrollo (Mata y Campos, 2007).

Las ECVs causan 16,7 millones de muertes en todo el mundo (OMS, 2003). Además, cinco de las diez principales amenazas mundiales para la salud, como la hipertensión arterial, el tabaquismo, el consumo de alcohol, la hipercolesterolemia y la obesidad o el sobrepeso, están relacionadas con las enfermedades del sistema circulatorio (Mata y Campos, 2007).

En la población española las ECVs constituyen la primera causa de muerte. Según el último informe de la Sociedad Española de Aterosclerosis (SEA), en 2004 las ECVs causaron 123,867 muertes, 339 muertes cada día (56,359 en varones y 67,508 en mujeres), lo que supone el 33% de todas las defunciones (29% en varones y 38% en mujeres), con una tasa bruta de mortalidad de 291 por 100.000 habitantes (269 en varones y 311 en mujeres) (INE, 2006).

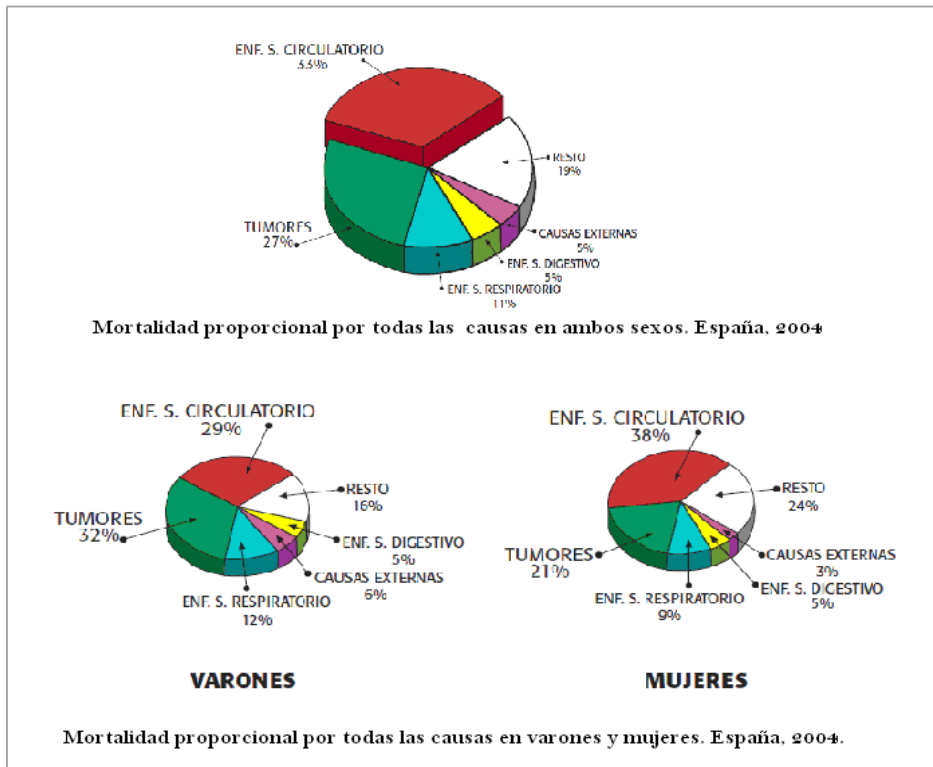


Figura 1. Mortalidad proporcional por todas las causas en varones y mujeres. España 2004. Tomado del Informe de la Sociedad Española de Aterosclerosis (INE, 2006).

Las dos principales enfermedades del sistema circulatorio son la enfermedad isquémica del corazón y la enfermedad cerebrovascular o ictus, que en conjunto producen casi el 60% de toda la mortalidad cardiovascular.

Desde el año 1996, en España la enfermedad isquémica del corazón es la que ocasiona un mayor número de muertes cardiovasculares (31% en total, un 39% en varones y 25% en mujeres). Este predominio de la enfermedad isquémica del corazón sobre la cerebrovascular se debe al mayor descenso relativo de la mortalidad cerebrovascular respecto de la mortalidad coronaria.

La tercera ECV importante como causa de muerte es la insuficiencia cardíaca, que ocasiona el 15% de la mortalidad cardiovascular total (12% en varones y 19% en mujeres).

La llamada enfermedad hipertensiva (hipertensión esencial, enfermedad cardíaca hipertensiva y enfermedad renal hipertensiva) produce el 5% de la mortalidad cardiovascular total (4% en varones y 6% en mujeres) (Mata y Campos, 2007).

Las ECVs generan un gasto sanitario anual superior a los 4,000 millones de euros. El diagnóstico precoz, la prevención efectiva y el tratamiento óptimo de las ECVs constituyen un auténtico desafío social y sanitario para nuestro país (García-Dorado y col., 2008).

Las tasas de mortalidad ajustadas por edad de España para el total de las ECVs son menores que las de otros países occidentales. España presenta un patrón de muerte coronaria semejante al de otros países mediterráneos aunque claramente inferior al de los países del centro y norte de Europa y Norteamérica, y una posición media-baja en el contexto de la mortalidad cerebrovascular occidental, al igual que otros países mediterráneos (Mata y Campos, 2007).

1.2. Definición y fisiopatología de las enfermedades cardiovasculares.

Las ECVs son aquellas debidas a trastornos del corazón y de los vasos sanguíneos, entre ellos las cardiopatías coronarias, las enfermedades cerebrovasculares, el aumento de la tensión arterial, las vasculopatías periféricas, las cardiopatías congénitas y la insuficiencia cardíaca (OMS, 2011).

Entre las ECVs debemos destacar:

La enfermedad coronaria (EC) o cardiopatía isquémica (CI) es la afectación de arterias coronarias manifestada por infarto agudo de miocardio, angina de pecho, insuficiencia cardíaca (IC) y muerte súbita. A continuación describiremos brevemente estas manifestaciones:

ANGINA DE PECHO. El término «angina de pecho» viene del latín «angor pectoris» y significa «estrangulamiento en el pecho». La angina es el dolor que se manifiesta cuando una arteria coronaria no puede suministrar suficiente sangre a una parte del músculo cardíaco para satisfacer su necesidad de oxígeno. No llega a producirse la necrosis o muerte de los miocitos cardíacos por lo que, a diferencia de un ataque al corazón, el músculo cardíaco no sufre un daño permanente y el dolor generalmente desaparece con el reposo (Texas Heart Institute, 2012).

INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO. Necrosis de miocitos cardíacos causada por un riego sanguíneo insuficiente debido a la obstrucción de una arteria coronaria. Las arterias coronarias se pueden bloquear por distintas causas, las más comunes son un coágulo de sangre y la aterosclerosis (Fundación Española del Corazón, 2012). La obstrucción de la arteria coronaria impide que llegue sangre rica en oxígeno y nutrientes a una sección del corazón. Si se obtiene tratamiento médico inmediatamente puede reducirse el daño, pero si una sección del músculo cardíaco muere, el daño es irreversible.

MUERTE SÚBITA. Se produce cuando el corazón deja de latir repentinamente, impidiendo que la sangre rica en oxígeno llegue al cerebro y otros órganos. La persona puede morir en cuestión de minutos si no recibe tratamiento inmediato (Texas Heart Institute, 2012).

Más de la quinta parte de las muertes en países desarrollados y un 50% de las de origen cardiovascular son atribuibles directamente a cardiopatía isquémica.

La enfermedad cerebrovascular es una lesión cerebral que también puede afectar gravemente al cuerpo. Se produce por afectación de las arterias carótidas, cerebrales y/o vertebrales, generalmente se producen cuando un coágulo sanguíneo obstruye transitoriamente una arteria del cerebro o del cuello, esto impide que una parte del cerebro reciba la sangre que necesita. Pueden ser bien asintomáticas (subclínicas) o bien manifestadas por ictus o ataques isquémicos transitorios.

Las vasculopatías periféricas son debidas al daño u obstrucción de las arterias iliacas y/o femorales. Se manifiestan por dolor en las pantorrillas, los muslos o las nalgas, según el lugar de la obstrucción. En general, la intensidad del dolor es un signo de la gravedad de la obstrucción. En algunos casos podría producirse la gangrena o muerte de tejido siendo necesaria una amputación del mismo. También pueden manifestarse por claudicación intermitente cuyo síntoma es el dolor en las piernas en forma de calambre y que, al igual que la angina de pecho, generalmente desaparece con el reposo (Texas Heart Institute, 2012).

Las cardiopatías congénitas consisten en malformaciones del corazón presentes desde el nacimiento. Su incidencia global es de 8 por cada 1,000 recién nacidos. Por fortuna, la gran mayoría de las cardiopatías congénitas pueden someterse hoy en día a una corrección total o casi definitiva, lo que posibilita que el niño pueda disfrutar de una vida también completamente normal o casi normal.

Existen más de 50 tipos diferentes de cardiopatías congénitas. Frecuentemente puede presentarse una combinación de varias de ellas en un mismo niño, pero la gravedad del caso no viene definida necesariamente por el número de lesiones asociadas.

1.3. Aterosclerosis.

Vamos a tratar la aterosclerosis en un punto aparte debido a que esta enfermedad es el proceso subyacente en la mayoría de las ECVs (coronarios, cerebrales y periféricas) siendo entonces la principal causa de muerte y de discapacidad en todas las sociedades industrializadas.

La aterosclerosis comprende varios procesos que se desarrollan en la túnica íntima, como infiltración de grasa, engrosamiento fibroso, depósito de fibrina y calcificación (OMS, 2011). Este proceso es multifactorial y posee factores de riesgo tanto genéticos como ambientales, además, los factores de riesgo para la aterosclerosis, son comunes para los distintos territorios vasculares, por lo que no es de extrañar que la presencia de aterosclerosis en cualquiera de estos territorios incremente de forma significativa la probabilidad de enfermedad en las otras distribuciones (Alonso y Sabán, 2009).

1.3.1. Desarrollo de la aterosclerosis.

La aterosclerosis es una enfermedad con desarrollo progresivo. Puede comenzar con una lesión endotelial crónica, que altera la función endotelial produciendo un aumento de la permeabilidad del endotelio y de la adhesión leucocitaria, sin embargo se ha observado que algunas placas de ateroma aparecen en lugares donde el endotelio permanece intacto. En estos casos la alteración de la función endotelial se debería a factores genéticos, produciéndose una expresión anómala de algunos productos de genes en el endotelio, y de los trastornos hemodinámicos productos de una función circulatoria normal, ya que las placas se suelen localizar en las “bocas” y ramificaciones de las arterias donde el flujo es turbulento produciendo fuerzas sobre la pared vascular que provocarían la alteración endotelial.

La respuesta inflamatoria local como resultado de un endotelio activado resulta en un incremento de la permeabilidad y de la expresión de moléculas de adhesión leucocitaria, como la molécula de adhesión celular vascular 1 (VCAM-1), la molécula de adhesión intracelular de células 1 (ICAM-1) y la E-selectina.

Las lipoproteínas LDL y VLDL, ricas en colesterol, migran a la íntima por estas zonas de permeabilidad aumentada y se oxidan. Producen radicales libres que desactivan el óxido nítrico disminuyendo la relajación endotelial, son quimiotácticas para monocitos circulantes y estimulan las moléculas de adhesión del endotelio.

Los monocitos se adhieren al endotelio activado y migran a la íntima donde fagocitan las LDL y VLDL convirtiéndose en células espumosas. Además las lipoproteínas inhiben la mortalidad de los macrófagos favoreciendo el reclutamiento y la permanencia de estos en las placas. Al aumentar el número de células espumosas

comienza a formarse la estría grasa. Si la lesión produce denudación las plaquetas también se adhieren al endotelio.

Las plaquetas, macrófagos y células vasculares activadas liberan factores que inducen la migración de células musculares lisas desde la media hacia la placa, estas proliferan y producen matriz extracelular dando lugar a la formación de la placa madura o fibroadiposa. La trombosis se desencadena cuando esta sección fibrosa se rompe.

1.4. Factores de riesgo de las enfermedades cardiovasculares.

Se considera factor de riesgo cardiovascular cualquier hábito o característica biológica que pueda servir para predecir un aumento de la probabilidad de un individuo de desarrollar una ECV.

Conocer y detectar los factores de riesgo es una tarea clave para la prevención del riesgo cardiovascular, lo cual es importante para la intervención sobre dichas enfermedades.

Las ECVs tienen normalmente una etiología multifactorial. La presencia de varios factores de riesgo en un mismo individuo multiplica su riesgo de forma importante ya que normalmente se potencian entre sí.

1.4.1. Clasificación de factores de riesgo en causales, condicionales y predisponentes.

Carlos Lahoz y José M. Mostaza de la Unidad de Arteriosclerosis del Hospital Carlos III, España, (Lahoz y Mostaza, 2007) definen los factores de riesgo de ECVs y los dividen en tres grupos:

FACTORES DE RIESGO CAUSALES. Aquellos que promueven el desarrollo de la arteriosclerosis y predisponen a la enfermedad coronaria. Actúan de forma independiente y sus efectos son sinérgicos. Estos son el tabaco, la hipertensión arterial, el colesterol LDL alto, el colesterol HDL bajo, la diabetes y la edad avanzada.

FACTORES DE RIESGO CONDICIONALES. Aquellos que se asocian con un aumento del riesgo de Cardiopatía Isquémica, pero su relación causal con esta no está

documentada. Están considerados como tales la hipertrigliceridemia, las partículas de LDL pequeñas y densas, la homocisteína sérica elevada, los factores protrombóticos y los marcadores inflamatorios.

FACTORES DE RIESGO PREDISPONENTES. Aquellos que empeoran los factores de riesgo causales y, en algunos casos, también afectan a los factores condicionales al elevar el riesgo de esta forma. Dentro de estos nos encontramos la obesidad, la inactividad física, la insulinoresistencia, la obesidad abdominal, la historia familiar de cardiopatía isquémica prematura, las características étnicas y los factores psicosociales.

1.4.2. Clasificación de factores de riesgo en modificables y no modificables.

Actualmente los factores de riesgo de ECVs se pueden clasificar también como no modificables y modificables:

1.4.2.1. Factores de riesgo no modificables.

SEXO. Los hombres tienen un riesgo mayor que las mujeres de padecer ECVs. Esto ocurre debido a que los estrógenos, una hormona femenina secretada en mayor cantidad en la etapa fértil de la mujer, protegen de las ECVs. Sin embargo cuando las mujeres comienzan la menopausia esta diferencia es menor, igualándose, tras los 65 años de edad, riesgo cardiovascular para hombres y mujeres.

No obstante hay que considerar que el riesgo cardiovascular en la mujer, incluso dentro de su etapa fértil, también es importante, por ejemplo en EEUU la principal causa de mortalidad entre mujeres de mediana y mayor edad son las ECVs (Folta y col., 2008). Además cada vez son más las mujeres jóvenes que adoptan malos hábitos cardiovasculares, como por ejemplo el consumo de tabaco. Por esto las estrategias para prevenir las ECVs son también importantes en las mujeres.

FACTORES GENÉTICOS. Las ECVs suelen ser hereditarias. Por ejemplo, si los padres o hermanos padecieron de un problema cardíaco o circulatorio antes de

los 55 años de edad, la persona tiene un mayor riesgo cardiovascular que alguien que no tiene esos antecedentes familiares. Además otros factores de riesgo (hipertensión, diabetes, obesidad...) también suelen ser hereditarios.

Es por ello que se considera un factor de riesgo cardiovascular tener antecedentes familiares de enfermedad coronaria precoz (antes de los 55 años de edad en familiares masculinos de primer grado o antes de los 65 años de edad en familiares femeninos de primer grado) (Plaza y col., 2000).

Además el riesgo de desarrollar la enfermedad arterial coronaria es elevado en familiares de primer grado de pacientes que ya la sufren siendo incluso mayor este riesgo si esta enfermedad se desarrolla a una temprana edad (Marenberg y col., 1994; Connelly y col., 2008).

EDAD. A mayor edad, mayor riesgo de padecer ECVs. Aproximadamente 4 de cada 5 muertes debidas a una enfermedad cardíaca se producen en personas mayores de 65 años de edad.

Con la edad, la actividad del corazón tiende a deteriorarse. Puede aumentar el grosor de las paredes del corazón, las arterias pueden endurecerse y perder su flexibilidad y, cuando esto sucede, el corazón no puede bombear la sangre tan eficientemente como antes. Debido a estos cambios, el riesgo cardiovascular aumenta con la edad (Texas Heart Institute, 2012).

1.4.2.2. Factores de riesgo modificables.

HIPERTENSIÓN ARTERIAL. La hipertensión arterial (HTA) (presión arterial sistólica > 140 mmHg y presión arterial diastólica > 90 mmHg) aumenta el riesgo de sufrir una ECV debido principalmente a que produce una disfunción endotelial y un aumento de las respuestas presoras entre otros factores (León-Latre y col., 2009). Aunque algunos factores de riesgo producen hipertensión, es posible padecerla sin tener otros factores de riesgo.

Según el estudio Framingham (Fox CS y col., 2007) valores de presión arterial de 130-139/ 85-89 mmHg aumentan más de dos veces el riesgo

relativo de padecer una ECVs comparado con una presión arterial inferior a 120/80 mmHg.

Es muy importante por tanto controlar la tensión arterial en prevención primaria, así como en prevención secundaria ya que, si el paciente tiene una tensión arterial elevada, el riesgo de reinfarto y de mortalidad tras un IAM aumentan (Velasco y col., 2000).

HIPERCOLESTEROLEMIA. Es uno de los principales factores de riesgo debido a la gran relación existente entre éste y la aparición de complicaciones isquémicas de la arterosclerosis así como a su elevada frecuencia en los países occidentales.

El colesterol es una sustancia grasa natural presente en todas las células del cuerpo humano necesaria para el normal funcionamiento del organismo formando parte de las membranas celulares y siendo precursor de algunas vitaminas, hormonas y sales biliares (Fundación Española del Corazón, 2012). Por ello el colesterol en sí mismo no es dañino sino que hay que centrarse, como antes se describe, en la relación entre las distintas lipoproteínas plasmáticas que lo transportan (LDL/HDL) para definir esto:

- ❖ **Lipoproteína de baja densidad (LDL).** Se encargan de transportar nuevo colesterol desde el hígado a todas las células de nuestro organismo. Este es el denominado “colesterol malo” ya que el colesterol al unirse a la partícula LDL se deposita en la pared de las arterias y forma las placas de ateroma.
- ❖ **Lipoproteína de alta densidad (HDL).** Recogen el colesterol no utilizado y lo devuelve al hígado para su almacenamiento o excreción al exterior a través de la bilis. Por ello el colesterol unido a esta lipoproteína se denomina “colesterol bueno”, esta partícula HDL transporta el exceso de colesterol de nuevo al hígado para que sea destruido.

Según la Sociedad Europea de Hipertensión y Cardiología un colesterol total superior o igual a 200 mg/dl, LDL superior o igual a 150 mg/dl y/o HDL inferior a 40-48 mg/dl (este último varía dependiendo del sexo) están considerados como dislipemia.

La hipercolesterolemia por sí sola no indica un riesgo cardiovascular elevado, sin embargo, la hipercolesterolemia familiar sí que representa un riesgo elevado de ECVs en ausencia de otros factores de riesgo (Plaza y col., 2000).

DIABETES. Las ECVs son la principal causa de muerte entre diabéticos, especialmente entre los que padecen diabetes tipo II la cual tiene el doble de riesgo en la incidencia de enfermedad coronaria e ictus, aumentando de 2 a 4 veces la mortalidad por dichas enfermedades. La Asociación Americana del Corazón (AHA) calcula que el 65 % de los pacientes diabéticos mueren de algún tipo de ECV.

La diabetes es un potente factor de riesgo cardiovascular que además interacciona con otros factores de riesgo ya que aumenta el colesterol VLDL y LDL, disminuye el colesterol HDL, produce un aumento del estrés oxidativo, HTA y altera la coagulación.

Según la Asociación Americana de Diabetes (Genuth y col., 2003), podemos utilizar la glucemia basal para definir los distintos tipos de individuos que nos encontramos frente a esta enfermedad ya que los diferentes niveles de glucosa basal representan una alteración en el metabolismo de la glucosa.

De esta manera si la glucosa basal es inferior a 110 mg/dl el individuo no se considerará diabético, si encontramos valores de glucemia basal entre 110 y 125 mg/dl consideraremos al individuo prediabético o con una alta probabilidad de desarrollar diabetes tipo II, y si encontramos valores de glucemia basal superiores a 126 mg/dl nos encontramos frente a un individuo diabético.

OBESIDAD. La obesidad es una alteración de la salud caracterizada por un exceso de grasa corporal que puede o no distribuirse de forma característica (Alonso y col., 2007). La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha calificado a la obesidad como la epidemia del siglo XXI. El sobrepeso y la obesidad aumentan las probabilidades de

adquirir otros factores de riesgo cardiovascular como hipertensión, niveles elevados de colesterol y diabetes.

Según el Instituto Nacional de los Pulmones, el Corazón y la Sangre de los Estados Unidos (NHLBI), se considera que una persona sufre de sobrepeso si tiene un IMC superior a 25 Kg/m² y que es obesa si la cifra es superior a 30.

Se considera un factor de riesgo cardiovascular cuando el IMC es igual o superior a 30 Kg/m². El riesgo relativo de mortalidad por ECVs aumenta según aumenta el IMC, siendo esto más acusado cuando el IMC es > 30 Kg/m².

Dependiendo de la distribución de la grasa en el organismo podemos diferenciar dos tipos de obesidad:

- ❖ **Obesidad Visceral.** También llamada obesidad abdominal o tipo androide ya que es el género masculino el que más presenta este tipo de obesidad. La grasa predomina en la mitad superior del cuerpo como en el cuello, hombros y sector superior del abdomen. Es este tipo de obesidad el que conlleva un mayor riesgo cardiovascular.
- ❖ **Obesidad periférica.** También denominada obesidad glúteo-femoral o tipo ginoide por ser el género femenino el que más la presenta. El tejido adiposo se concentra en la mitad inferior del cuerpo como por ejemplo en caderas, glúteos y muslos.

La obesidad visceral o intraabdominal, definida por la circunferencia de la cintura (un perímetro abdominal a nivel de la cintura mayor o igual a 102 cm en el varón y mayor o igual a 88 cm en la mujer) se relaciona significativamente con la edad, la presión arterial, los triglicéridos plasmáticos, la glucemia, la insulina plasmática y los índices de insulinoresistencia, y de forma inversamente proporcional con la concentración de HDL, por lo que constituye un importante factor de riesgo cardiovascular. Además, la grasa, y en concreto la grasa visceral intraabdominal, es un tejido endocrino metabólicamente activo capaz de sintetizar y liberar al torrente sanguíneo una gran variedad de péptidos y compuestos no peptídicos que pueden participar en la homeostasis cardiovascular.

La obesidad es, junto con el tabaco, el principal factor responsable de morbilidad, mortalidad y discapacidad prematuras en la población española (Mata y Campos, 2007).

TABAQUISMO. Fumar aumenta el riesgo de ECV. El tabaco es responsable del 50% de las muertes evitables, la mitad de dichas muertes debidas a ECVs.

Las investigaciones demuestran que fumar acelera el pulso, contrae las principales arterias y puede provocar irregularidades en la frecuencia de los latidos del corazón, todo lo cual aumenta el esfuerzo del corazón. Fumar también aumenta la presión arterial, lo cual a su vez aumenta el riesgo de un ataque cerebral en personas que sufren de hipertensión. Aunque la nicotina es el agente activo principal del humo del tabaco, otros compuestos y sustancias químicas, tales como el alquitrán y el monóxido de carbono, también son perjudiciales para el corazón. Estas sustancias químicas contribuyen a la acumulación de placa grasa en las arterias, posiblemente por lesionar las paredes de los vasos sanguíneos. También afectan al colesterol y a los niveles de fibrinógeno, aumentando así el riesgo de que se forme un coágulo sanguíneo que pueda provocar un ataque al corazón (Texas Heart Institute, 2012).

SEDENTARISMO. Se considera un factor de riesgo importante de ECV. Existen numerosos estudios que muestran que la práctica de actividad física se asocia a una reducción del riesgo y mortalidad cardiovascular (Thomas y col., 2003; Foltz y col., 2008).

Las personas inactivas tienen un mayor riesgo de padecer ECVs que las personas que hacen ejercicio regular. El ejercicio consume calorías y ayuda a controlar los niveles de colesterol y la diabetes. El ejercicio también fortalece el músculo cardíaco y hace más flexibles las arterias. Las personas que queman activamente entre 500 y 3,500 calorías por semana tienen una expectativa de vida superior a la de las personas sedentarias. Incluso el ejercicio de intensidad moderada es beneficioso si se hace con regularidad (Texas Heart Institute, 2012).

HIPERTROFIA VENTRICULAR IZQUIERDA. Se define como el aumento del grosor de la pared interventricular debido a un incremento del tamaño de las células musculares cardíacas al aumentar la síntesis proteica y producirse a su vez un cambio en la organización de la estructura sarcomérica (Carreño y col., 2006).

Aunque suele ser consecuencia de la afectación de los órganos diana debido a la HTA, constituye un factor de riesgo independiente para morbilidad y mortalidad de ECVs (Abecia y col., 2001), aumentando el riesgo de padecer IAM, fallo cardíaco y muerte súbita. Varios estudios demuestran que existe relación entre obesidad y la presión arterial elevada con el incremento del índice de masa ventricular izquierda (Bendersky y col., 2002).

TROMBOSIS. La trombosis es un trastorno vascular que consiste en el desarrollo de una masa de sangre coagulada, denominada trombo, que bloquea de forma total o parcial el interior de un vaso sanguíneo.

La trombosis es un factor de riesgo crítico de ECV ya que el trombo, aunque no bloquee totalmente el vaso sanguíneo, puede desprenderse y pasar a circulación, de tal forma que al llegar a vasos más estrechos puede ocluirlo produciendo un infarto de la zona ocluida, como por ejemplo un infarto agudo de miocardio, una angina de pecho, oclusión coronaria o accidentes cerebrovasculares. Los fumadores, obesos y diabéticos los que tienen una mayor predisposición a sufrir esta enfermedad.

Existen marcadores de trombosis asociados al riesgo de cardiopatía isquémica, entre los que se encuentra la concentración de fibrinógeno plasmático (Rowland, 1996). Esto es así debido a que durante el desarrollo de la aterosclerosis el fibrinógeno se deposita en la placa aterosclerótica, donde se convierte en fibrina (Smith y col., 1990). La fibrina se acumula, así como sus productos de desintegración, siendo esto un estímulo para la migración y proliferación de células del músculo liso. Además existe una relación directa de la concentración de fibrinógeno y de la viscosidad plasmática con la gravedad de enfermedad arterial coronaria y disminución del flujo sanguíneo (Tataru y col., 2001).

INFLAMACIÓN. La elevación de biomarcadores inflamatorios se ha asociado positivamente con un empeoramiento del pronóstico del paciente con ECV tanto para el infarto de miocardio como para la insuficiencia cardiaca (Brunetti y col., 2007).

Incrementos en la concentración de citocinas inflamatorias como IL-6, TNF- α , IL-2 e IL-1 β intervienen en la modulación de la función cardiaca llegando incluso a inducir daños en los cardiomiocitos (Maass y col., 2002; Prabhu y col., 2004; Horton y col., 2005).

Los marcadores inflamatorios, como la Proteína C Reactiva (PCR), se engloban dentro de los factores de riesgo condicionales; no obstante se ha demostrado recientemente que la PCR participa como un promotor activo del proceso aterosclerótico (Rader, 2000).

Niveles altos de PCR se han correlacionado positivamente con la mayoría de los factores de riesgo cardiovasculares, y tienen una fuerte asociación con la adiposidad y, en menor medida, con la inactividad física (Festa y col., 2000; Amarencu y col., 2006). Se ha demostrado la fuerte asociación entre el síndrome metabólico y los niveles de PCR en la enfermedad coronaria cardiaca (Milani y Lavie, 2003).

1.5. Enfermedad cardiovascular y estrés oxidativo.

1.5.1. Estrés oxidativo.

Debido a que el sistema antioxidante puede no ser del todo eficiente se produce un incremento en los radicales libres que causa daño oxidativo ocasionado por las especies reactivas de oxígeno (ERO), el cual está implicado en la etiología de distintas enfermedades como el cáncer, la diabetes, desordenes neurodegenerativos y, las que ocupan esta tesis, las ECVs (Redon y col., 2003; Navab y col., 2004; Zufeng Ding y col., 2013).

Hasta mediados del pasado siglo el estudio de los radicales libres estuvo limitado a la física, la química y la biología. No será hasta 1969, cuando se considere como un fenómeno importante los daños producidos por los radicales libres en el organismo, a partir del descubrimiento de la enzima superóxido dismutasa. Hasta la década de 1980 no se comienza a aceptar que los radicales libres estaban implicados en numerosas

enfermedades del ser humano. En los últimos años las ERO han sido cada vez más estudiadas en el ámbito clínico (Pérez, 2000). En la actualidad se sabe que el organismo produce de modo constante pequeñas cantidades de ERO, que son tóxicas para el organismo y de las cuales se defiende mediante el sistema antioxidante (Díaz y Juárez, 2007).

Podríamos considerar al oxígeno como una contradicción ya que por una parte es necesario como último aceptor de electrones en la respiración celular, siendo esencial para la vida, y por otra parte es el punto de inicio en la génesis de los radicales libres, los cuales son la causa del daño oxidativo.

Se podría definir estrés oxidativo como el desequilibrio causado entre la producción de estas ERO y la capacidad del sistema biológico de eliminar estos radicales libres y/o reparar el daño causado por los mismos. Dependiendo de la magnitud de este desequilibrio la célula podrá superar los daños producidos o bien quedar dañada de forma irreversible llegando a producirse necrosis si la oxidación es muy intensa. Incluso una oxidación moderada puede desencadenar la apoptosis.

Los radicales libres se encuentran asociados a la fisiopatología y/o evolución de diversas enfermedades debido al daño oxidativo que producen, siendo reconocidos como un mecanismo general de daño celular. Entre estas enfermedades se encuentran las ECVs (Elena De Marchi y col., 2013).

El desequilibrio entre las ERO y el sistema biológico antioxidante puede estar causado bien por una deficiencia de la defensa antioxidante o bien por un aumento en la génesis de ERO (Pérez, 2000). En cualquier caso estas ERO producirán daños en lípidos, proteínas, carbohidratos y ADN debido a distintos mecanismos como ruptura de puentes de azufre, ruptura de enlace peptídico, glicosidación, etc... esto conllevará un cambio estructural y por tanto funcional en estas moléculas, lo cual causa alteraciones metabólicas en el organismos que, al acumularlas de forma progresiva, pueden provocar distintas enfermedades:

DAÑOS A LOS LÍPIDOS. Los ácidos grasos poliinsaturados se pueden oxidar mediante un proceso denominado peroxidación lipídica (la cual se explicará más adelante). Gran parte de los lípidos peroxidados se encuentran formando parte de la membrana celular. Las células necesitan una membrana celular íntegra

para realizar un intercambio correcto de metabolitos y nutrientes con el medio que les rodea, siendo esto esencial para el desarrollo de sus funciones y la regulación osmótica. La alteración de los lípidos de membrana puede interferir en este intercambio lo cual se traduciría en una mala función celular, en un mal desarrollo o crecimiento de la célula y en un metabolismo incorrecto (Hulbert y col., 2005).

DAÑO A LAS PROTEÍNAS. La reacción de las ERO con las proteínas puede dar lugar a la formación de hidroperóxidos, hidroxilación de grupos aromáticos y aminoácidos alifáticos de las cadenas laterales, oxidación de grupos sulfidrilo, sulfoxidación de la metionina, conversión de aminoácidos a derivados carbonilo, ruptura de enlaces peptídicos y formación de puentes cruzados. Estas modificaciones pueden producir en la proteína acumulación e inhibición de su degradación, interferencias en la diferenciación celular y apoptosis o bien la pérdida de su actividad enzimática si la tuviese, conllevando una pérdida total o parcial de su actividad, si dicha reacción se encuentra dentro de una ruta metabólica este daño oxidativo podría afectar a toda la ruta (Vargas, 2007). El daño en las proteínas es por tanto de gran importancia ya que puede afectar a la función de receptores, transportadores y enzimas, dañando así a otras moléculas de forma indirecta. La modificación de grupos radicales de aminoácidos es el principal daño producido por el estrés oxidativo en las proteínas, estas modificaciones interfieren en la formación de interacciones estabilizadoras intra e intercatenarias lo cual resulta en modificaciones conformacionales de la proteína, muchas veces incompatibles con su función normal (Díaz y Juárez, 2007).

DAÑO AL ADN. Las ERO pueden llegar a causar daño en el ADN produciendo así daño en la información genética. La mayor parte de este daño lleva además a una ruptura del mecanismo de control codificado genéticamente produciendo una elevación del número de fallos que puedan generarse. Si todos estos fallos desembocan en la formación de un tumor este afectará muy probablemente al resto de tejidos del organismo provocando a menudo la muerte del individuo. Muchos de los factores ambientales que producen cáncer, como las radiaciones, algunos componentes de los alimentos o los hábitos de vida, lo hacen, no

directamente, sino a través de la producción de ERO que conlleva a un incremento del estrés oxidativo. Se ha estimado que ocurren unas 10,000 interacciones entre los radicales libres generados de forma endógena y el ADN, por célula humana por día, y que esto da lugar a que, al acumularse estos fallos genéticos producidos, por lo menos una de cada tres proteínas generadas sea disfuncional debido al estrés oxidativo en personas de edad avanzada.

Las ERO pueden atacar al esqueleto de desoxirribosa o bien a las bases nitrogenadas. Si las moléculas afectadas son las desoxirribosas el ADN puede fragmentarse. Si se afectan las bases se producirán modificaciones en la secuencia de la información genética (Díaz y Juárez, 2007).

Las modificaciones en proteínas podría originar una alteración en la actividad enzimática, la peroxidación lipídica produce una modificación en la estructura de la membrana y la modificación del ADN podría dar lugar a carcinogénesis.

1.5.2. Tipos de oxidantes.

Las ERO son átomos o moléculas altamente reactivas debido a la disposición de los electrones en la última capa de valencia que, mediante reacciones redox (de oxidación-reducción), atacan constantemente al organismo. Desde el punto de vista químico los radicales libres son todas aquellas especies químicas, cargadas o no, que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una configuración espacial que genera gran inestabilidad ya que busca con avidez completar su par electrónico (Justo, 2002).

Los radicales libres tienen una vida media corta (millonésimas de segundo), ya que no alcanzan la estabilidad hasta que su electrón forma un par, por lo que actúan cerca del lugar en el que se forman y son difíciles de cuantificar (Gutiérrez y col., 2002). Los radicales libres pueden existir independientemente, como una molécula cualquiera, pero al tener electrones desapareados necesitan estabilizarse, siendo por tanto muy reactivos. Por lo que su vida media dependerá principalmente del medio en el que se generen y de la presencia cercana de moléculas con las cuales puedan reaccionar.

Lo más habitual es clasificar a los radicales libres según el átomo que posea el electrón desapareado (Díaz y Juárez, 2007), que será normalmente un átomo muy

electronegativo. Por lo que tendremos radicales libres de oxígeno, de nitrógeno y de carbono principalmente. Los que poseen mayor importancia, debido al daño que causan, en los sistemas biológicos son los radicales libres de oxígeno y de nitrógeno. Los radicales libres de carbono suelen ser el resultado de la interacción de los primeros sobre moléculas orgánicas no radicales.

RADICALES LIBRES DE OXÍGENO. También llamados ERO. Se originan por transferencia de electrones sobre el átomo de oxígeno, representan por tanto distintos estados en la reducción de éste y se caracterizan por tener una vida media muy corta. Son los más importantes debido a su reactividad y a la variedad y cantidad de procesos en los que se ven involucrados. Encontramos aquí los radicales dioxígeno, anión superóxido, hidroxilo, peroxilo, alcoxilo e hidroperóxilo. Se pueden agrupar aquí también compuestos no radicales pero con gran poder oxidante ya que se convierten en oxidantes muy fácilmente como el peróxido de hidrógeno, el singlete de oxígeno, el ácido hipocloroso y el ozono.

RADICALES LIBRES DE NITRÓGENO. Esencialmente el óxido nítrico y dióxido de nitrógeno y moléculas no radicales que pueden originar radicales de nitrógeno o bien, que se originan de las reacciones de los primeros con otras moléculas como el ácido nitroso, peroxinitrito, ácido peroxinitroso, catión nitrinio, tetraóxido de dinitrógeno y trióxido de dinitrógeno.

RADICALES LIBRES DE CARBONO. Uno de los radicales libres de carbono más estudiados es el radical quelil. Este puede formarse cuando la benzofenona abstrae un átomo de hidrógeno de un donador. Existen tres tipos de radicales libres de carbono atendiendo a su estabilidad, la cual depende de las posibilidades de deslocalización del electrón libre. Los radicales libres primarios son los menos estables, como el metilo y sus análogos, teniendo por tanto una vida media muy corta (5 a 10 milisegundos). Los radicales libres secundarios son más estables que los primarios. Los radicales terciarios son los de mayor estabilidad. Cuando el electrón tiene una gran deslocalización, es decir, que existen muchas formas resonantes de la misma especie radical, esta tendrá una gran estabilidad. M. Ballester descubrió especies radicales de carbono como el perclorotrifetilmetilo con una vida media de más de 100 años debido a la gran deslocalización de su electrón.

En la presente memoria de tesis nos centraremos en las **especies reactivas de oxígeno**, entre las cuales destacamos los siguientes radicales libres:

DIOXÍGENO U OXÍGENO MOLECULAR O_2 . Es la forma más conocida de las ERO. Resulta de la unión covalente de dos átomos de oxígeno. Puesto que posee dos electrones que no forman par en su último orbital electrónico se considera un birradical. Es el oxidante más importante de los organismos aerobios aunque por él mismo es poco reactivo debido a que sus electrones desapareados están en orbitales y posiciones moleculares diferentes, teniendo ambos el mismo sentido de giro (spin paralelo) por lo que no puede captar dos electrones de forma simultánea sino que capta los electrones de uno en uno en las reacciones en las que participa.

ANIÓN SUPERÓXIDO O_2^- . Se forma al reducirse el O_2 captando un electrón. El electrón ganado se sitúa en el penúltimo subnivel de energía del último orbital del dioxígeno, por lo que ahora solo falta un electrón para completar el octeto. Debido a esto el anión superóxido es más reactivo que el oxígeno molecular.

RADICAL HIDROXILO OH. Es la ERO más reactiva por lo que se produce su reacción inmediata en el lugar en el que se genere. Su vida media es de 10^{-9} segundos. El radical está compuesto por un átomo de hidrógeno y uno de oxígeno que se unen covalentemente. Al compartir el hidrógeno un electrón con el oxígeno deja libre un lugar en su orbital, donde se encuentra el electrón desapareado. Al ser el oxígeno mucho más electronegativo que el hidrógeno el electrón compartido se encuentra más cerca del núcleo del oxígeno lo que hace que este se encuentre más cerca de cumplir la regla del octeto, explicando esto su gran reactividad.

PERÓXIDO DE HIDRÓGENO H_2O_2 . Se forma al reducirse completamente el O_2^- . No es radical libre ya que no posee electrones desapareados pero puede dar lugar a la formación de hidroxilo, de ahí su importancia.

SINGLETE DE OXÍGENO. Todos sus electrones forman pares por lo que su último subnivel se encuentra vacío. Como los electrones tienden a acomodarse

siguiendo un mismo sentido de giro hasta completar todos los subniveles energéticos esta molécula es muy inestable, con una vida media de unos 10^{-6} segundos lo que le dan una gran reactividad.

1.5.3. Formación de radicales libres.

La mayor parte de las ERO se producen en la mitocondria aunque existen distintos procesos fuente de radicales libres como pueden ser:

PROCESOS FISIOLÓGICOS. Se generan en mitocondrias, retículo endoplasmático, linfocitos, etc. como consecuencia de reacciones fisiológicas normales de la célula como la reacción de Haber-Weiss y de Fenton (Vargas, 2007).

PROCESOS PATOLÓGICOS. Los radicales libres están presentes en muchos procesos patológicos, como por ejemplo en los procesos inflamatorios. Aunque en muchos casos no se sabe si son la causa o la consecuencia de los mismos, o bien ambas.

PROCESOS ENZIMÁTICOS. Por ejemplo la NADPH oxidasa de membrana la cual, especialmente en inflamación y fagocitosis, genera ERO (Bowler y col., 2002).

FACTORES EXTERNOS:

- ❖ **Contaminantes ambientales.** Uno de los contaminantes ambientales que más radicales libres produce es el humo del cigarrillo ya que en sí mismo contiene millones de radicales libres y además diversos contenidos del mismo estimulan la formación de moléculas reactivas que no hacen más que aumentar más la carga de radicales.
- ❖ **Radiaciones ionizantes:** una excesiva exposición a la radiación, incluso a la luz visible, puede llegar a dañar células y tejidos. Por ejemplo los rayos UVA poseen energía suficiente como para excitar electrones de orbitales externos de distintos átomos lo cual

desemboca en la producción de radicales libres. A consecuencia de este proceso y de las quemaduras solares producen un aumento de los lipoperóxidos alterando la membrana celular de las células cutáneas, alteran también la actividad enzimática y el ADN de fibroblastos siendo por ello los responsables de distintos tipos de patologías cutáneas como el cáncer de piel y la dermatosis (Vargas, 2007).

- ❖ **Agentes dietéticos:** Una dieta incorrecta, rica en grasas y baja en frutas y verduras puede producir un aumento de la producción de radicales libres. Por ejemplo, altos niveles de azúcares producen un aumento en la producción de ERO debido a la auto-oxidación de los mismos (Ceriello, 2000). De la misma forma un alto consumo de lípidos conllevará una mayor peroxidación lipídica de los mismos. Este punto se explicará con detalle más adelante cuando hablemos específicamente de la relación entre la dieta y el estrés oxidativo.
- ❖ **Exceso de ejercicio:** Durante el ejercicio, especialmente si este no se realiza de forma regular, se produce un aumento de la producción de radicales libres. Este aumento puede deberse a varios motivos; el principal es el aumento del consumo de oxígeno por la aceleración de la respiración aerobia. Por otra parte el ejercicio produce un aumento de catecolaminas que incrementa a su vez la producción de ERO. Además la respuesta inflamatoria secundaria producida por un ejercicio excesivo para el músculo, ya sea por el exceso de intensidad del ejercicio o por la falta de costumbre, incrementa la producción de radicales libres (Clarkson y Thompson, 2000).

PROCESOS DESENCADENADOS POR ERO. El daño estructural y funcional provocado por las ERO es, en sí mismo, una fuente de producción de nuevos radicales libres. Las ERO generan por ejemplo derivados como los hidroperóxidos orgánicos los cuales propagan el daño oxidativo ya que también son ERO (Cherubini y col., 2008).

A pesar del indudable daño que las ERO causan al organismo estas especies reactivas poseen funciones fisiológicas como participar en la

fagocitosis, en la síntesis de colágeno, de prostaglandinas, participan en la activación de enzimas, favorecen la quimiotaxis y disminuyen la síntesis de catecolaminas (Justo, 2002). Un ejemplo sería la fagocitosis, proceso celular en el cual células especializadas (macrófagos y neutrófilos) engloban y destruyen partículas sólidas con fines de defensa, reparación o remodelación tisular. Durante este proceso se produce el denominado “estallido respiratorio” en el cual el complejo enzimático de NADPH de la membrana leucocitaria cataliza la conversión de oxígeno molecular en anión superóxido y la enzima superóxido dismutasa convierte éste en peróxido de hidrógeno que se usa para producir hipohalogenuros (radicales haluros) a partir de halogenuros por acción de mieloperoxidasa que se encuentra en los gránulos leucocitarios. Esta descarga respiratoria produce una gran cantidad de radicales libres destinados a destruir microorganismos invasores, o restos celulares, gracias a su poderosa acción oxidativa, en procesos patológicos (Díaz y Juárez, 2007).

En la mitocondria, durante la etapa de fosforilación oxidativa que ocurre en la respiración celular, la mayor parte del oxígeno (95%) en organismos aerobios se reduce a H₂O al recibir cuatro electrones, pero, un pequeño porcentaje (5%) no llega a reducirse completamente convirtiéndose así en ERO (Rodríguez y col., 2001; Lindsay y col., 2002).

Una correcta fosforilación oxidativa impediría la génesis de radicales libres por parte de la mitocondria, para esto sería necesario que el ADN mitocondrial (ADNmt) se mantenga intacto. Pero esto no es así, ya que conjuntamente con el envejecimiento celular el ADNmt acumula mutaciones, las cuales se transmiten en la división mitocondrial y celular, lo que produce fosforilaciones oxidativas defectuosas y por tanto un transporte defectuoso de los electrones lo cual incrementa la producción de radical superóxido a partir del oxígeno. De forma espontánea o por acción de la superóxido dismutasa este radical dismuta en peróxido de hidrógeno y éste puede reaccionar para formar el radical hidroxilo. La producción de radicales libres aumenta, por tanto, con el

tiempo lo que producirá un aumento del daño molecular y macromolecular, lo cual está ligado al proceso de envejecimiento (Vargas, 2007).

1.5.4. Reacciones de los radicales libres.

Las reacciones en las que intervienen los radicales libres pueden clasificarse en tres tipos (Díaz y Juárez, 2007):

REACCIONES DE INICIACIÓN. Una molécula no radical es convertida en radical libre. Casi siempre son reacciones catalizadas, bien por catalizadores físicos como la radiación ultravioleta o químicos como metales o enzimas. Un radical se puede formar por pérdida de un electrón, adición de un electrón o rotura del enlace covalente en la que cada molécula generada retiene uno de los electrones del par compartido anteriormente.

REACCIONES DE AUTOPROPAGACIÓN. Un radical libre reacciona con una molécula no radical originando así una segunda especie radical. Los nuevos radicales libres formados suelen tener vidas medias más largas y pueden actuar, a su vez, sobre otras moléculas no radicales transformándolas en radicales, iniciándose así una reacción en cadena que generará una gran cantidad de radicales libres por autopropagación.

REACCIONES DE TERMINACIÓN. Dos radicales libres reaccionan entre sí para unir sus electrones desapareados formando un enlace covalente constituyendo así una molécula no radical. También puede ocurrir que un radical libre sea reducido por una molécula donadora de electrones libres dejando así de ser radical.

1.5.5. Sistema de defensa antioxidante.

Dado que los radicales libres son muy reactivos, el organismo posee sistemas antioxidantes para proteger del daño oxidativo que estos pudieran provocar.

Los antioxidantes son moléculas que eliminan o neutralizan a las ERO o bien impiden que la reacción oxidativa que producen ocurra protegiendo así a los tejidos de su acción nociva (Céspedes, 2000). Los antioxidantes poseen una afinidad mayor al del resto de moléculas para interactuar con los radicales libres, por lo que aun encontrándose en bajas concentraciones impedirá la oxidación de otras sustancias.

Pueden distinguirse dos tipos de antioxidantes (Díaz y Juárez, 2007):

EXÓGENOS. Sustancias externas al organismo que disminuyen los efectos adversos de radicales libres. Como la mayor parte de estas sustancias se encuentran en los alimentos, también pueden llamarse dietéticos. Cada día son más los fármacos que intentan emular estas sustancias con el fin de mimetizar sus efectos y así tratar distintas enfermedades en las cuales el estrés oxidativo es una de las causas más importantes. Normalmente son compuestos de bajo peso molecular como la vitamina C, vitamina E, provitamina A y algunos elementos traza como selenio, cobre zinc y manganeso. Estas sustancias pueden actuar captando radicales libres o bien como coenzimas de algunos enzimas antioxidantes del organismo. Existen también algunos fármacos que, sin intentar emular a los antioxidantes dietéticos, poseen actividad antioxidante, como algunos antiinflamatorios no esteroideos o la penicilina entre otros.

ENDÓGENOS. Se dividen en enzimáticos y no enzimáticos.

- ❖ **No enzimáticos.** Moléculas que ceden un electrón al radical libre quedando ellas como especies oxidadas no tóxicas. Pueden ser proteínas intracelulares (como la lactoferrina y la ferritina) así como proteínas plasmáticas transportadoras de metales (transferrina, albúmina) o complejos organometálicos (hemopexina) que quelan hierro o cobre e impiden así que tomen parte en procesos tipo Fenton. También pueden ser péptidos como el glutatión que posee un sulfhidrilo reductor. Éste puede existir en su forma reducida (GSH) u oxidada (GSSG), en la forma oxidada los sulfidrilos de dos glutatión pierden los hidrógenos y forman un puente disulfuro. La función antioxidante del GSAH es indirecta ya que es un coenzima de la glutatión peroxidasa (GPx) y junto a NADPH puede reducir peróxido de hidrógeno y lipoperóxidos. Tras realizar esta función antioxidante el GSSG es reducido de nuevo

para dar dos moléculas de GSH mediante NADPH y la enzima reductasa de glutatión, esto es así debido al alto costo que tiene para la célula la síntesis de GSH y a la necesidad de un continuo aporte de este péptido para garantizar la protección.

- ❖ **Enzimáticos.** Son distintas enzimas que intervienen en las reacciones redox catalizando las reacciones cuyo substrato son las ERO y eliminándolas así del organismo. Tenemos, por ejemplo, la superóxido dismutasa (SOD), que cataliza la dismutación del anión superóxido obteniendo oxígeno molecular y peróxido de hidrógeno, la catalasa (CAT), convierte dos moléculas de peróxidos de hidrógeno en dos de agua y una de oxígeno, y la GPx, cataliza la reducción de peróxido de hidrógeno a dos moléculas de agua. De estas enzimas se hablará más profundamente más adelante.

Los antioxidantes actúan a distintos niveles según el grado de agresividad de los radicales libres. En primer lugar actúa la citocromo oxidasa encargándose de la reducción del 90% del oxígeno dando lugar a moléculas de agua. En el segundo nivel actúan las distintas isoformas de SOD transformando el anión superóxido en oxígeno molecular y peróxido de hidrógeno. Posteriormente actúan la CAT y la GPx que evitan la formación de hidroxilo a partir de peróxido de hidrógeno. Finalmente, las vitaminas antioxidantes como las vitaminas C, E y A, entre otras, que neutralizan los radicales superóxido e hidroxilo.

Las moléculas y células que, a pesar de este sistema antioxidante se ven dañadas suelen eliminarse y reemplazarse rápidamente por lo que el último nivel de defensa estaría constituido por el ciclo de degradación y renovación de cada una de ellas, por ejemplo los mecanismos de reparación del ADN que permiten reparar y mantener estable la información genética cuando se produce algún daño oxidativo en ella (Díaz y Juárez, 2007).

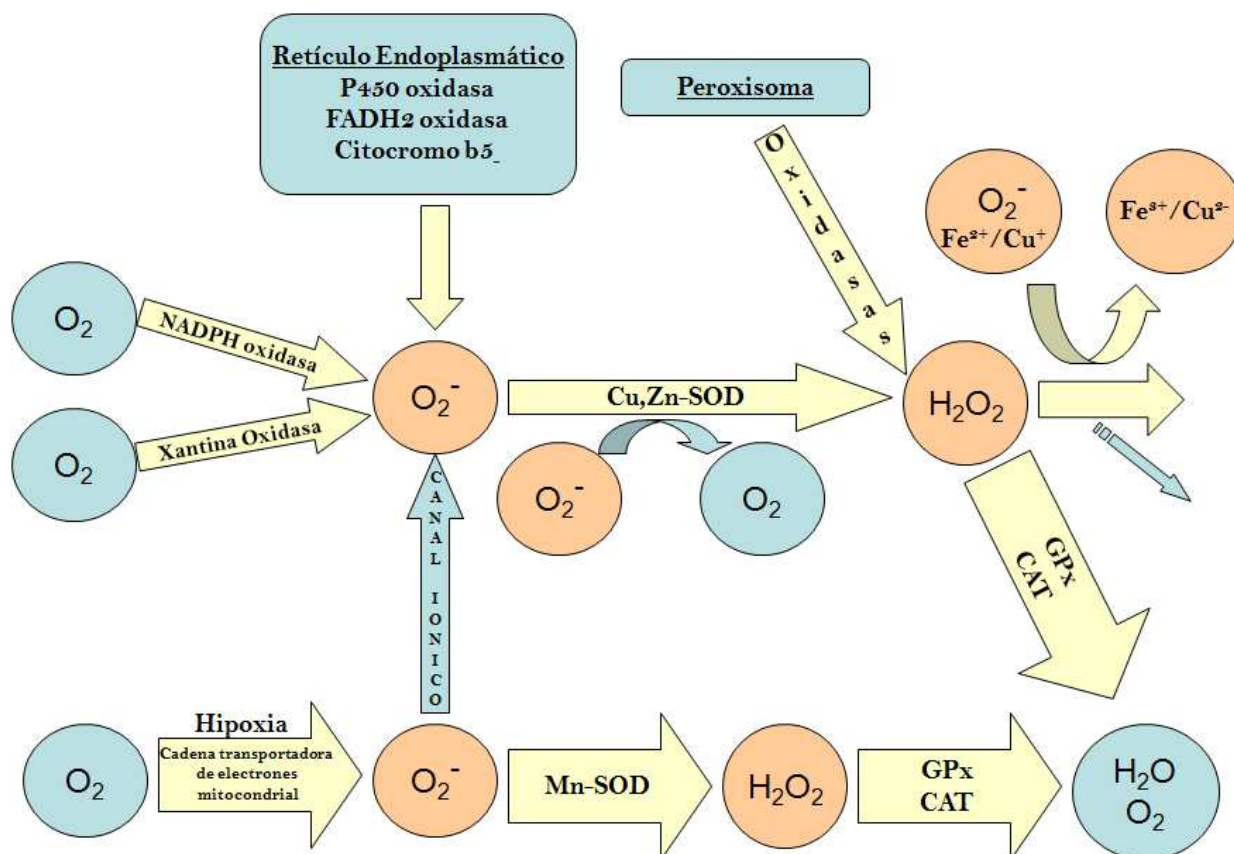


Figura 1. Formación de algunos de los principales radicales libres y actuación del sistema antioxidante enzimático.

1.5.6. Relación del Estrés Oxidativo con las ECVS.

Como hemos comentado anteriormente debido a que el sistema antioxidante puede no ser del todo eficiente, un incremento en los radicales libres produce daño oxidativo causado por las ERO.

La obesidad y el sobrepeso, la resistencia a la insulina y la diabetes tipo II, la hipertensión y las dislipemias son sin duda factores de riesgo que aumentan la posibilidad de padecer ECVs. Pero existen estudios que nos dicen que estos factores de riesgo no pueden explicar por si solos el gran aumento que producen del riesgo cardiovascular (Maddux y col., 2001; Maziere y col., 2004; Nicholls y col., 2005), es decir, que deben existir otros procesos subyacentes a los descritos anteriormente que contribuyan a la etiología de estas enfermedades.

Rector y colaboradores, señalan que el aumento del estrés oxidativo debido a la obesidad puede influir en el desarrollo de resistencia a la insulina y por tanto en la aparición o progresión de las ECVs (Rector y col., 2012).

TEORÍA OXIDATIVA DE LA ATEROSCLEROSIS. En los últimos años ha crecido el número de investigaciones que apoyan que el estrés oxidativo es uno de los puntos clave en la etiología de las ECVs. La teoría oxidativa de la aterosclerosis postula que la oxidación del colesterol y de los lípidos insaturados de la partícula de LDL por parte de las ERO es una de las principales causas del desarrollo de esta enfermedad (Navab y col., 2004) así como la peroxidación de lípidos de las membranas de células endoteliales de la pared vascular y la consiguiente formación de peroxilos, hidroperoxilos y aldehídos los cuales producen efectos tóxicos sobre la pared vascular.

La primera lesión observada en la aterosclerosis es la formación de la placa grasa, caracterizada por la acumulación de células espumosas en el espacio subendotelial. Ya en 1979, Chisolm y col., sugirieron que la oxidación de la LDL podía ser una causa importante en la génesis de la aterosclerosis ya que esta oxidación era perjudicial para las células de las arterias, (Chisolm y col., 2000 & 2001). Se observa que las partículas LDL no oxidadas tras entrar en el espacio subendotelial no son fagocitadas en esta forma por lo que retornan sin problemas a la circulación. Sin embargo, si los radicales libres presentes en plasma o en células locales oxidan esta partícula de LDL los macrófagos la fagocitan rápidamente (Diaz y Juarez, 2007).

Así por ejemplo, el malondialdehído, un producto de la peroxidación lipídica, puede oxidar a las LDL por causar la formación de bases de Schiff en la apolipoproteína B formándose así una lipoproteína LDL oxidada que puede ser reconocida por los macrófagos dando lugar a la acumulación de ésteres del colesterol característica de las células espumosas (Tzu-Ching y col., 2014).

Las LDL oxidadas también inducen el reclutamiento y la retención de más macrófagos circulantes ya que inducen la formación de proteínas quimiotácticas, atrayendo monocitos a la placa. También inducen la producción de factores estimulantes de macrófagos y granulocitos, aumentando su actividad en la zona aterosclerótica. Esta situación es citotóxica para las células endoteliales y limita la vasodilatación que en principio induciría el endotelio

como mecanismo para compensar la disminución del diámetro de la luz del vaso en el que se ha formado la placa aterosclerótica.

Cuando los macrófagos internalizan las LDL oxidadas pierden la capacidad de activar el sistema de regulación negativa, al contrario de lo que ocurriría si estas partículas LDL no estuviesen oxidadas, por lo que siguen fagocitando LDL, y por tanto colesterol, de forma masiva produciéndose así las células espumosas, que se congregan formando la estría grasa (Díaz y Juárez, 2007).

ESTRÉS OXIDATIVO Y FACTORES DE RIESGO. Existen diversos factores de riesgo en el desarrollo de estrés oxidativo.

- ❖ **Edad.** La teoría del envejecimiento a causa de las ERO nos dice que el deterioro de los tejidos, así como las patologías asociadas al envejecimiento, entre las cuales destacan las ECVs, se producen por la acumulación de lesiones producidas por los radicales libres a todos los niveles antes descritos (Kasapoglu y Ozben, 2001). Se ha demostrado también que con la edad disminuyen las concentraciones de antioxidantes, incluyéndose aquí el sistema antioxidante enzimático.
- ❖ **Hipertensión arterial.** En pacientes con HTA se ha encontrado un exceso de ERO y se puede considerar que en parte es el resultado de las lesiones (vasculares, parenquimatosas...) causadas por estas especies (Zalba y col., 2001). Varios estudios demuestran que, asociado a la HTA, existe un aumento de la peroxidación lipídica en plasma y en las membranas celulares (Galceran y col., 2000). Además un exceso de EROS, como el O_2^- , producen peroxinitrito al reaccionar con el óxido nítrico (NO), disminuyendo así la concentración de este último, por lo que disminuye la vasodilatación arterial (Touyz y col., 2004; Zalba y col., 2005).
- ❖ **Hipercolesterolemia.** Está demostrado que el desarrollo de la aterosclerosis depende en gran medida de la susceptibilidad que las partículas LDL tengan de oxidarse. Por tanto para frenar el progreso de la placa aterosclerótica y el desarrollo de la misma en sitios nuevos, podemos actuar en dos frentes, reduciendo el sustrato de la reacción, es decir, reduciendo el número de partículas LDL y/o reduciendo la

concentración de ERO que puedan oxidar dicho sustrato (Rocha y col., 2009).

- ❖ **Diabetes.** Existen estudios que afirman que el estrés oxidativo contribuye a producir resistencia a la insulina ya que disminuye la captación de glucosa por parte de los miocitos. Además el LDL oxidado producido a causa de las ERO inhibe diversas etapas de la señalización de la insulina y está asociado a la sensibilidad a la insulina que presentan personas obesas o con sobrepeso no diabéticas (Chen y col., 2000; Maddux y col., 2001; Ho y col., 2002; Maziere y col., 2004).

Altos niveles de glucosa inducen la glicosilación no enzimática de proteínas alterando así su estructura y función, esto influye también sobre las enzimas del sistema antioxidante (Liudmila y col. 2009).

- ❖ **Obesidad y sobrepeso.** Varios estudios demuestran que la producción de ERO en la mitocondria de personas obesas es mayor que la producida en personas con normopeso (Meigs y col., 2007; Lefort y col., 2010).

Samocha-Bonet y colaboradores (Samocha-Bonet y col., 2012) realizaron un estudio en el cual analizaron el efecto que tiene una ingesta elevada de grasa en la dieta sobre los marcadores de estrés oxidativo en personas obesas y vieron que tras una dieta alta en grasas los marcadores de estrés oxidativo se incrementaban, aunque no llegan a concluir si el incremento se debe exclusivamente a la grasa o a la ganancia de peso asociada.

La pérdida de peso, debida al ejercicio físico y a la dieta, produce reducciones importantes del estrés oxidativo (Rector y col., 2012).

- ❖ **Inflamación.** Las ERO estimulan el factor de transcripción nuclear NFκB. Este factor se encuentra relacionado con la inflamación ya que desencadena la expresión de una serie de genes para las moléculas adhesivas y citoquinas, desencadenando el proceso inflamatorio típico de la placa aterosclerótica (Collins y col., 2001).

- ❖ **Trombogénesis.** las ERO alteran la función de las plaquetas. Por ejemplo el ion superóxido y los niveles altos de peróxido de hidrógeno en plasma aumentan la agregación plaquetaria. Es por esto que el balance entre ERO y el sistema antioxidante juega un rol importante en la agregación plaquetaria, la formación de trombos y el desarrollo de eventos trombóticos clínicos (Freedman, 2008).

1.5.7. Parámetros de estrés oxidativo determinados en la presente Memoria y su relación con las ECVs.

CATALASA (CAT). La catalasa es una enzima antioxidante que se localiza en los peroxisomas celulares. Cataliza la conversión de dos moléculas de peróxido de hidrógeno en dos de agua y una de oxígeno, previniendo así reacciones tipo Fenton que formarían radicales hidroxilos (Díaz y Juárez., 2007).

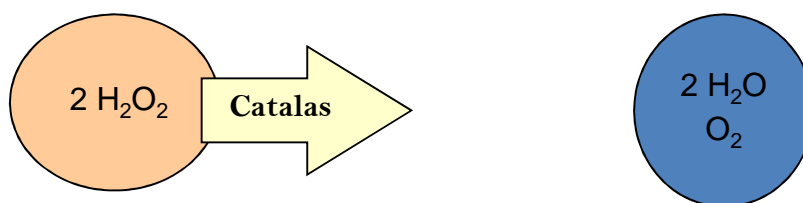


Figura 2. Esquema reacción típica catabolizada por la enzima Catalasa.

Existen estudios en ratones con hipertensión en los que la administración de CAT (bolos intravenosos de derivados de catalasa-polietilenglicol durante tres días) reducía la presión sanguínea y mejoraba la función endotelial (Fukai, 2007; Jung y col., 2007).

La sobreexpresión de CAT protege el endotelio de la aorta frente a la apoptosis causada por las LDL oxidadas en humanos (Lin y col., 2004).

Amirkhizi y colaboradores (Amirkhizi y col., 2010) realizaron un estudio en mujeres hipertensas, pre-hipertensas y normotensas (controles) en el que obtuvieron diferencias significativas de actividad de CAT entre los grupos. Las mujeres hipertensas tenían menor actividad de catalasa que las demás pacientes, pero también existían diferencias estadísticamente significativas entre el grupo

pre-hipertenso y el control, teniendo el grupo pre-hipertenso menor actividad de CAT que el grupo control.

La disminución de la actividad de la CAT suele ser proporcional a la gravedad de la hipertensión medida como presión sanguínea. Además también ha sido encontrada una elevación de la concentración plasmática de peróxido de hidrógeno, el principal substrato de la catalasa, en pacientes hipertensos (Lacy y col., 2000). Si este aumento de la concentración de peróxido de hidrógeno se ve acompañada de la disminución de actividad de CAT observada en estos pacientes, conllevaría a un mayor daño oxidativo en la pared vascular como es, por ejemplo, una mayor peroxidación lipídica, con todas las consecuencias que esto produce en el desarrollo de la ECV.

GLUTATION PEROXIDASA (GPx). La GPx es una selenoproteína citosólica que cataliza la reducción de peróxido de hidrógeno en dos moléculas de agua utilizando electrones donados por el glutatión.

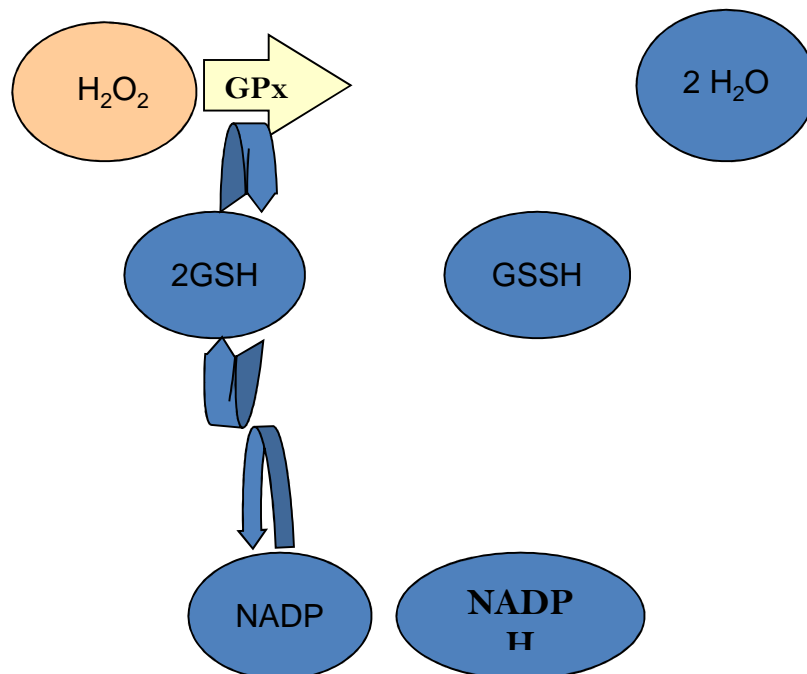


Figura 3. Esquema reacción típica catabolizada por enzima Glutacion Peroxidasa.

La GPx es una de las principales enzimas que forman parte de la defensa antioxidante y es clave en la protección tisular. Se encuentra un pico de actividad de GPx en las zonas de placa aterosclerótica en humanos. Este dato apoya el desequilibrio específico entre ERO y defensa antioxidante, es decir, la existencia de estrés oxidativo en el proceso aterogénico (Fei Cheng y col., 2013).

El selenio es imprescindible en la actividad de la glutatión peroxidasa. Se han encontrado niveles bajos de este mineral en suero y sangre de pacientes con IAM. Thiele y colaboradores (Thiele y col., 1997), estudiaron dos grupos de pacientes, a un grupo suministraron selenio de forma intravenosa como tratamiento adicional en la fase aguda del infarto de miocardio, este grupo se comparó con un segundo grupo control que no recibió esta suplementación. A todos los pacientes se les midió la actividad de GPx posterior al infarto, encontrándose que la actividad de esta enzima era mayor en los pacientes con la suplementación de selenio. Además, se observó que durante los primeros días tras el evento CV las complicaciones fueron menos frecuentes en el grupo suplementado con selenio que en el grupo control. Trabajos posteriores apoyan estos resultados (Lorgeril y Salen, 2006; Edith y col., 2010).

Distintos estudios muestran que la actividad de GPx es menor en pacientes con hipertensión (Redon y col., 2003; Chaves y col., 2007).

SUPERÓXIDO DISMUTASA (SOD). La SOD comprende una familia de isoenzimas que catalizan la dismutación de superóxido en peróxido de hidrógeno y oxígeno molecular. En el humano existen tres isoformas de SOD:

- ❖ SOD-Zn²⁺/Cu²⁺ localizada en el citoplasma.
- ❖ SOD-Mn³⁺ que se encuentra en algunas bacterias y en la matriz mitocondrial.
- ❖ SOD extracelular que se secreta al plasma y al líquido extracelular.

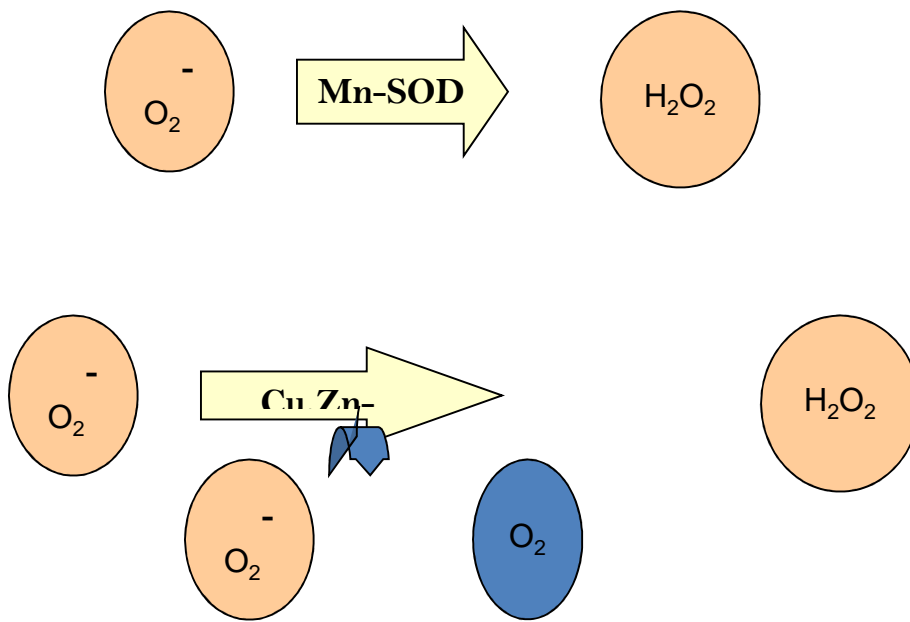


Figura 4. Esquema reacciones típicas catabolizadas por la enzima Superóxido Dismutasa.

La SOD es de especial interés en el caso de las ECVs ya que distintos estudios muestran que es un marcador eficiente, así como un buen corrector, en caso de hipertensión, insuficiencia cardíaca, diabetes y aterosclerosis (Maksimenco y Vavaev, 2012).

El ion superóxido puede reaccionar con el NO formando peroxinitrito y disminuyendo así la concentración de éste, por lo que se produce un aumento de la presión vascular, poniéndose de manifiesto el importante rol de esta enzima en la hipertensión.

Se han encontrado bajos niveles de SOD en pacientes con angina y tras un IAM. Esta enzima tiene un rol importante en la protección del músculo cardíaco tras la isquemia y se puede observar que la actividad de SOD es inversamente proporcional a la función ventricular izquierda (Céspedes y Sánchez 2000).

En el estudio realizado por Kedzidora y colaboradores (Kedzidora y col., 2004) en el que valoran marcadores de estrés oxidativo en sangre de pacientes con

hipertensión encuentran que el grupo con hipertensión posee menor actividad de SOD que el grupo con hipertensión.

PEROXIDACIÓN LIPÍDICA (TBARS). La peroxidación lipídica puede definirse como el daño producido a los lípidos debido a un proceso degenerativo causado por el estrés oxidativo. Este proceso es el origen de distintas enfermedades principalmente al causar alteraciones en la conformación de la membrana celular y por tanto de su correcto funcionamiento (Traverso y col., 2004).

Los ácidos grasos poliinsaturados de los fosfolípidos de membrana son particularmente susceptibles a sufrir peroxidación. Los hidroperóxidos lipídicos resultantes se acumulan en la membrana contribuyendo aún más a producir cambios en la fluidez de la membrana, aumento o disminución de su permeabilidad, alteración de sus propiedades, la pérdida de la estructura de la misma y alteración funcional de proteínas de membrana. (Lee y col., 2004).

La **peroxidación lipídica** se produce en varias etapas:

- 1) **Etapas de Iniciación.** Un radical libre ataca a un carbono de la cadena alifática de un ácido graso, eliminando así un hidrógeno del grupo metileno (-CH₂-) unido a un carbono flanqueado por dobles enlaces de un ácido graso poliinsaturado, con la consiguiente formación de un radical libre alquílico (L·).
- 2) **Etapas de propagación.** Posteriormente se observa una reacción en cadena que propaga el daño y produce la formación de más radicales libres. El radical alquílico formado en la primera fase reacciona con el oxígeno y forma un radical peroxilo (LOO·) que puede reaccionar con otros ácidos grasos poliinsaturados y originar un hidroperóxido o lipoperóxido (LOOH) y un radical alquílico propagándose así el daño a un número creciente de ácidos grasos. El LOO· puede disociar hidrógeno de moléculas con enlaces débiles como el OH cromanol del α -tocoferol y se producen una serie de reacciones en las que intervienen el ascorbato y el glutatión reducido que permiten la regeneración de la vitamina E (Salonen y col., 2003).

- 3) Etapa de terminación o descomposición. En la que los hidroperóxidos formados se descomponen en etano, pentano, aldehídos reactivos y cetonas. Se forman aldehídos como el malonildialdehído (MDA) y el 4-hidroxinonenal que pueden reaccionar con proteínas y ácidos nucleicos lo que produce el daño en células y ADN.

Los aldehídos generados son muy estables y reactivos, produciendo por ello daño a los tejidos. Por ejemplo, el MDA puede producir daños proteicos uniéndose covalentemente a distintas proteínas. Estas proteínas modificadas pueden acumularse y producir daños celulares. Además la unión de MDA y proteínas genera productos de terminación de lipoperoxidación los cuales pueden generar daño por sí mismos. (Bennaars-Eiden y col., 2002).

Una de las técnicas más utilizadas a la hora de valorar el estrés oxidativo es la medida de la peroxidación lipídica mediante la determinación de sustancias reaccionantes con el ácido tiobarbitúrico (TBARs).

Se discute la determinación de MDA mediante la reacción con el ácido tiobarbitúrico por ser inespecífica, ya que solo detecta una de las formas de los compuestos carbonílicos generados durante la peroxidación; no obstante, la comunidad científica la suele incorporar en el estudio del estrés oxidativo, acompañada de otras valoraciones (como por ejemplo actividad de enzimas antioxidantes), debido a su bajo costo y la sencillez del proceso (Miranda & Herrera, 2008).

La alta concentración de ERO y la baja biodisponibilidad del óxido nítrico (NO) en la HTA favorecen la oxidación lipídica (Redón y col., 2003) encontrándose un aumento de lípidos peroxidados en pacientes hipertensos (Ferroni y col., 2006).

Si asociamos la HTA con otros factores de riesgo cardiovascular se puede observar como esto se traduce en un aumento del daño molecular y por ende de la oxidación lipídica. Pacientes hipertensos con cardiopatía isquémica poseen una mayor concentración de TBARs, lo que evidencia que la asociación de complicaciones cardiovasculares en el hipertenso incrementa el daño por

peroxidación lipídica y por tanto un mayor daño en celular en la función vascular (Miranda y Herrera, 2008).

Durante el infarto de miocardio aumenta la concentración de ERO y la peroxidación lipídica por distintas vías como la pérdida de la homeostasis mitocondrial, la formación de metabolitos del ácido araquidónico y la activación de fagocitos (Ioanna y col., 2009).

El 4-hidroxi-2-nonenal (HNE) y el 4-hidroxihexenal (HEE) son aldehídos generados por la peroxidación lipídica y se ven implicados en el desajuste del balance redox en las ECVs produciendo el deterioro de las células vasculares. Ambos producen una interrupción de la membrana mitocondrial, la cual liberará como consecuencia citocromo C al citosol, este interactúa con las caspasas induciendo así la apoptosis celular. El HEE induce además la formación de nuevas ERO (Brand y col., 2004).

1.6. Enfermedad cardiovascular, dieta y estrés oxidativo.

La dieta influye en la prevención, desarrollo, evolución y recuperación de las ECVS. Las dietas bajas en grasas y ricas en frutas y verduras tienen una gran influencia en la prevención de ECVS. En diversos estudios se muestran disminuciones significativas en la morbilidad y mortalidad de cardiopatía isquémica al tomar una dieta rica en pescado o mediterránea respectivamente. La disminución era mayor a la observada con fármacos lipemiantes (Abecia y col., 2001; Ozkanlar y col., 2012; Ken, 2013; Susan y col., 2013).

La dieta es clave a la hora de prevenir, padecer o tratar las ECVs ya que influye en muchos de los factores de riesgo cardiovasculares:

HIPERTENSIÓN ARTERIAL. Está bien demostrado la relación entre el exceso de consumo de sal y el aumento de la tensión arterial, tanto en estudios ambientales y epidemiológicos, como en estudios de intervención (Hankey, 2012). Una mayor ingesta de sal se traduce en una mayor presión sanguínea y se ha demostrado esta disminuye al disminuir la ingesta de sal en personas con y sin hipertensión. (He y MacGregor, 2002). Distintos estudios muestran reducciones en la presión sistólica (3.7 – 7 mmHg)

y diastólica (0.9- 2.5 mmHg) al someter a los pacientes hipertensos a una dieta con restricción de la ingesta de sal (He y MacGregor, 2001; He y MacGregor, 2009).

El consumo de bebidas excitantes produce un aumento de la tensión arterial. En especial está demostrado que el café tiene efectos fisiológicos agudos perjudiciales sobre la presión arterial, tanto sistólica como diastólica, así como sobre la resistencia vascular y la vasodilatación del endotelio. Estos efectos pueden estar causados por el aumento de la actividad simpática, el aumento de los niveles de norepinefrina, la activación del sistema renina-angiotensina y las consecuencias sobre el riñón que produce esta bebida (Papamichael y col., 2005; Vlachopoulos y col., 2005; Geleijnse, 2008; Larssonand y Orsini, 2011).

Distintos estudios muestran que el elevado consumo de hidratos de carbono, en especial los azúcares como la fructosa, incluidos en bebidas refrescantes y comidas rápidas, están asociados a un aumento del riesgo de padecer hipertensión (Jalal y col., 2010).

HIPERCOLESTEROLEMIA. No existe una relación lineal entre el colesterol plasmático y el colesterol que se ingiere en la dieta. Sin embargo un exceso de ácidos grasos saturados eleva el número de partículas VLDL séricas totales en mayor medida que el propio colesterol ingerido debido a un aumento de la síntesis y secreción de la Apolipoproteína B-100. Además los ácidos grasos saturados producen una acumulación de partículas LDL en plasma debido a la inhibición de los receptores de las mismas. (Ulate-Montero y col., 2001; Tobias Pischon y col., 2005).

Los ácidos grasos poliinsaturados omega-6 disminuyen el colesterol LDL ya que promueven a nivel génico la síntesis de receptores LDL. El efecto hipocolesterolemia puede deberse a la activación de la acil colesterol acil transferasa, enzima que disminuye la concentración intracelular de colesterol no esterificado. Y a la inhibición de la actividad enzimática de la HMGCoA reductasa, enzima de gran importancia en la síntesis de colesterol. (Zarzuelo Zurita, 2009)

Los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 disminuyen niveles de VLDL en plasma debido a la inhibición de la producción de ácidos grasos y triglicéridos. Sin embargo, la ingesta de ácidos grasos insaturados trans eleva el colesterol

LDL y disminuyen el HDL (Ascherio y col., 1999), comportándose de forma similar a los ácidos grasos saturados.

Por lo tanto es importante una correcta relación de los distintos tipos de grasa ingerida en la dieta. Para el control de la hipercolesterolemia la ingesta de grasa debe estar limitada al 25-35 % de la ingesta total calórica diaria de las cuales los ácidos grasos saturados deben ser menores al 7%, los ácidos grasos poliinsaturados deben constituir aproximadamente el 10% y los ácidos grasos monoinsaturados el 20% (Informe de la FESNAD, 2010)

Un consumo de fibra elevado en la dieta disminuye los triglicéridos y el LDL en sangre

(Hankey, 2012) gracias a los mecanismos de adsorción de sales biliares y colesterol, así como de absorción intestinal de colesterol por β -sitosterol y saponinas. De esta manera cada 5-10 gramos de fibra soluble ingerida reduce el colesterol LDL en un 10%.

DIABETES. Un exceso del consumo de hidratos de carbono puede desembocar en el desarrollo de resistencia a la insulina y diabetes (Elliott y col., 2002; Howard y Wylie-Rosett, 2002). En 2006 la American Heart Association recomendó disminuir el consumo de comidas y bebidas con alto contenido en azúcares debido a su relación con el aumento del riesgo de diabetes tipo 2 y, por tanto, de ECVs (Lichtenstein y col., 2006).

Un elevado consumo de fibra reduce la presión sanguínea y la glucosa en sangre disminuyendo así el riesgo de padecer ECVs. Además, el tipo de fibra influye en este caso debido a la diferencia que se encuentra en los micronutrientes que van asociados a la fibra y que dependen de los distintos granos de cereal de los que la fibra procede (Oh y col., 2005).

OBESIDAD Y SOBREPESO. Más del 90% de los casos de obesidad se deben a un exceso de consumo de alimentos dentro de una dieta no equilibrada. Desde los años 70 se ha observado un aumento de las calorías diarias en la dieta. Aunque este aumento se estabilizó en los 90 y los casos de obesidad siguieron aumentando se puede explicar por los malos hábitos alimenticios que se siguieron y se siguen adquiriendo actualmente,

como aumentar el número de veces a la semana que se come fuera de casa, aumentar la cantidad de alimentos fritos y de comidas precocinadas, todo esto sin disminuir el aumento del aporte calórico (Gutierrez-Fisac y col., 2006). También hay que destacar que aunque la ingesta calórica se ha estabilizado la composición de la misma ha variado, aumentando las calorías aportadas por las grasas.

INFLAMACIÓN. Los ácidos grasos poliinsaturados n-3, concretamente de los ácidos grasos eicosapentaenóico (EPA) y docosaexaenóico (DHA), reemplazan al ácido araquidónico en la membrana celular, por lo que, en el proceso de síntesis de eicosanoides, la ciclooxigenasa y lipooxigenasa oxidarán estos ácidos grasos en vez de al ácido araquidónico, formando eicosanoides con un poder inflamatorio menor que los que se forman a partir del ácido araquidónico (Jacobson, 2008).

TROMBOGÉNESIS. La dieta mediterránea ejerce un papel protector contra las ECVs al disminuir la trombogénesis. Esta dieta tiene un contenido bajo en ácidos grasos saturados los cuales ejercen una función protrombótica alterando la función endotelial. (Díaz Rodríguez, 2012). Los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 tienen acción vasodilatadora y antiagregante plaquetaria. Una ingesta de fibra elevada disminuye el riesgo de trombosis.

INGESTA DE ALCOHOL. Los datos epidemiológicos muestran el efecto beneficioso del consumo moderado de alcohol sobre la morbilidad y mortalidad de ECVs ya que aumenta los niveles de HDL y disminuye el riesgo de padecer un infarto de miocardio, tiene efectos beneficiosos sobre la homeostasis (Sierksma y col., 2002; Mukamal y col., 2005) y sobre la resistencia a la insulina. Personas que han sufrido un evento cardiovascular previo y que consumen alcohol en cantidad moderada tienen menor mortalidad que los abstemios (Mukamal, 2003; Sara A., 2012).

La ingesta moderada de alcohol también está asociada con la disminución de los niveles de marcadores inflamatorios los cuales tienen una gran importancia dentro de las ECVs. Por ejemplo distintos estudios, demuestran el poder cardioprotector de la cerveza por sus propiedades antioxidantes, anticoagulantes, por su capacidad de mejorar el metabolismo lipídico y por enlentecer el proceso aterosclerótico (Cepicka y Karabin, 2002; Gorinstein y col., 2003; Kondo 2004,).

1.6.1. Influencia de la dieta en el estrés oxidativo.

EFEECTO PROOXIDANTE DE LA DIETA. En cuanto a la influencia de la dieta en el estrés oxidativo, la mayor parte de los estudios se han enfocado a la evaluación de los tipos de grasa de la dieta. Algunos autores han comprobado que, cuanto mayor es el número de insaturaciones de los ácidos grasos, mayor será la oxidación de los mismos, por lo que la ingesta elevada de EPA y DHA podría promover el estrés oxidativo (Wu y col., 2006; Decker y col., 2010). Sin embargo existen contradicciones entre los beneficios que producen estos ácidos grasos y el balance entre los efectos que pueden tener sobre ellos las EROS y el sistema antioxidante del organismo.

Macedo y colaboradores (Macedo y col., 2011) estudiaron la influencia del consumo de los ácidos grasos n-3 sobre el estrés oxidativo en mujeres con y sin hipercolesterolemia y encuentran que, en ambos casos, un aumento de la ingesta de EPA y DHA produce un aumento de la síntesis y actividad de la SOD pero no de la CAT. Como veíamos anteriormente estas dos enzimas actúan coordinadamente para disminuir la concentración de ERO en el organismo. Por tanto, un aumento de la síntesis y actividad de la SOD provocará un aumento en la concentración de peróxido de hidrógeno, pero no habrá suficiente CAT para convertir este peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, por lo que este exceso de ERO formado podrá actuar sobre los ácidos grasos ingeridos y producir un aumento de la peroxidación lipídica y los productos que esta genera. En este estudio, no se pone en duda el beneficio que tiene para las ECVs una ingesta adecuada de ácidos grasos n-3 tomando al pescado al menos tres veces por semana, pero si se ve de forma contradictoria el beneficio de la suplementación crónica de este tipo de nutrientes mediante tratamiento farmacológico.

Otros estudios se centran en el posible déficit de ingesta de oligoelementos que, por ser necesarios para el funcionamiento del sistema antioxidante endógeno, producirían por tanto un aumento de la concentración de ERO. Un ejemplo claro es el selenio, que forma parte de la GPx, la cual contiene un átomo de selenio por cada subunidad (Flohe y col., 1973), por lo que si su ingesta es insuficiente también lo será la síntesis de esta enzima. Una deficiencia de selenio produce un aumento del estrés oxidativo ya que este mineral es un elemento

esencial y cofactor para la actividad de la GPx. El selenio es un nutriente esencial y existen evidencias de que su ingesta es deficiente en Europa debido a la sustitución del trigo europeo por el Americano, el cual contiene menos selenio (Céspedes y Sánchez, 2000).

EFFECTO ANTIOXIDANTE DE LA DIETA. En la dieta podemos encontrar distintos componentes, sobre todo frutas, verduras y semillas, que aportan gran variedad de sustancias antioxidantes como vitaminas antioxidantes o fitoquímicos, los cuales serán un gran apoyo al sistema endógeno antioxidante.

El ácido ascórbico tiene un gran poder reductor por lo que es capaz de disminuir la concentración de ERO. Debido a que esta vitamina no se sintetiza en el organismo es de gran importancia tomarla en la dieta (Standing Committee on the Scientific valuation of Dietary Reference, 2000).

La vitamina E tiene una de las mayores capacidades antioxidantes demostradas in vivo y es el principal antioxidante liposoluble en humanos.

Se han descrito gran variedad de carotenos, en frutas y verduras, con efecto antioxidante, como por ejemplo la provitamina A. Así, se ha comprobado que el contenido en carotenos del zumo de tomate y de zanahoria incrementan los niveles plasmáticos de la glutatión transferasa (Liegibel y col., 2000). Los niveles plasmáticos de b-caroteno se correlacionan negativamente con el riesgo de desarrollar un infarto de miocardio (Karppi y col 2012). Una dieta rica en b-carotenos puede ayudar a prevenir las ECVs, siendo de mejor calidad los b-carotenos obtenidos de la dieta que los suplementados (Marco y col., 2013).

Los componentes fenólicos se encuentran localizados en verduras, hortalizas y frutas y comprenden una gran variedad de sustancias con diversas propiedades, dentro de las cuales cuentan con la capacidad antioxidante por excelencia de los grupos hidroxilo y la capacidad de donar hidrógeno (Lindsay y Astley, 2002).

Existen estudios de suplementación dietética con sustancias antioxidantes obtenidas de extractos de plantas que ponen de manifiesto el potencial de las sustancias fitoquímicas de la dieta debido al incremento producido en la actividad de la catalasa y de la GPx (Cheng y col., 2001).

La ingesta de flavonoides se asocia a la reducción del riesgo cardiovascular (Peters y col., 2001), apareciendo una gran disminución del riesgo de padecer ECVs al aumentar la ingesta de frutas y verduras.

Tenemos dos frentes al actuar sobre la dieta para disminuir el estrés oxidativo. Por una parte debemos reducir el efecto oxidante de la dieta, en este aspecto intentamos reducir la ingesta grasa y mejorar el tipo de ácidos grasos ingeridos para actuar principalmente sobre la peroxidación lipídica, así como conseguir un consumo correcto de frutas y verduras para no descuidar el aporte de oligoelementos, algunos de ellos esenciales para el correcto funcionamiento de las enzimas antioxidantes (Macedo y col., 2011).

Por tanto, vemos que si conseguimos modificar la dieta de los pacientes con ECVs y hacer estas modificaciones permanentes podremos ayudar a prevenir el desarrollo de estas enfermedades y/o mejorar su pronóstico.

1.7. Enfermedad cardiovascular, ejercicio y estrés oxidativo.

El ejercicio físico regular está fuertemente asociado con una disminución de la morbilidad y mortalidad de las ECVs (Jolliffe y col., 2002) teniendo efectos beneficiosos también para pacientes que ya hayan padecido un evento CV (Lichtenstein y col., 2006). Sin embargo, someter al organismo a ejercicio vigoroso y de larga duración no regular produce un aumento en los biomarcadores de estrés miocárdico como el péptido natriurético tipo B y en la troponina cardiaca, incluso en sujetos sanos (König y col., 2004).

Según el estudio realizado por De Teresa y col. (De Teresa y col., 2002) el ejercicio regular aporta los siguientes beneficios a pacientes con ECVs:

- ❖ Mejora el perfil lipídico reduciendo la hipercolesterolemia total y los niveles de colesterol LDL y aumentando los niveles de colesterol HDL.
- ❖ Mejora la presión arterial reduciendo los niveles de presión sistólica en reposo y durante el ejercicio moderado, los niveles de presión arterial diastólica y la resistencia vascular periférica. Además mejora la regulación por parte del sistema nervioso autónomo disminuyendo la estimulación simpática.

- ❖ Mejora de la diabetes debido a la mejora del control de la glucemia, así como de la resistencia a la insulina aumentando la sensibilidad de los receptores a dicha hormona.
- ❖ Mejora el IMC y la obesidad por disminuir el peso total y la masa grasa y aumentar la masa muscular.
- ❖ Reduce el estrés oxidativo. El ejercicio aumenta la producción de ERO debido al aumento de las necesidades y por lo tanto del consumo de oxígeno. Sin embargo, el ejercicio regular a intensidad igual o inferior al umbral anaeróbico produce una mejora del sistema antioxidante, siendo los radicales libres, producidos por el ejercicio, menores en relación con la mejora de los antioxidantes. Es decir, el ejercicio físico de intensidad moderada produce un efecto desintoxicante de las ERO del organismo. Sin embargo los ejercicios realizados a alta intensidad, superiores al umbral anaeróbico, aumenta el estrés oxidativo y por tanto el daño que este produce, ya que las ERO producidas durante el ejercicio superan las defensas antioxidantes del organismo (Scott y col., 2007; Alessandra y col., 2014).

La actividad física que realizan los pacientes con ECVs debe estar individualizada y programada dependiendo de la situación clínica del paciente para que no suponga más un riesgo que un beneficio debido a la mala condición física presentada por la mayoría de estos pacientes. Un ejercicio mal programado, de intensidad y/o duración inadecuada puede producir un aumento del riesgo CV debido a la sobreestimulación simpática, el aumento del estrés oxidativo y la disfunción inmune que puede desencadenar un ejercicio de intensidad muy elevada.

Resulta también indispensable que las sesiones de ejercicio físico a desarrollar por pacientes con ECVs comiencen con un calentamiento que será progresivo en intensidad y en grupos musculares utilizados, produciéndose así la elevación progresiva de la temperatura corporal y disminuyendo las resistencias para hacer el ejercicio más eficaz energéticamente y retrasando la aparición de la fatiga (De Teresa y Espinosa, 1999).

1.7.1 Ejercicio físico y estrés oxidativo

El punto más importante dentro del ejercicio físico es realizarlo de forma regular, ya que el ejercicio físico agudo aumenta en gran medida la producción de ERO y, por tanto, todos los procesos oxidativos asociados como la peroxidación lipídica (Anderson y col., 2010; Dejan y col., 2011).

Elosua y colaboradores (Elosua y col., 2003) estudiaron la respuesta, en cuanto al estrés oxidativo, de personas sanas que realizan actividad física regular y encontraron que la actividad de GPx es significativamente mayor que en el grupo control. La actividad de SOD también se veía aumentada de forma sustancial, aunque los resultados no son estadísticamente significativos. En cuanto a las partículas LDL, encontraron una mayor resistencia a la oxidación de las partículas de LDL en las personas que realizan ejercicio regular.

Distintos estudios en animales muestran también que el ejercicio produce beneficios a la hora de regular la actividad de las enzimas antioxidantes, en especial la actividad de GPx, viéndose una mejora en la actividad de la misma en distintos tejidos estudiados como el corazón, músculo esquelético, hígado y sangre. Estos estudios nos dicen que la razón principal de la adaptación se debe a que el ejercicio regular produce una mayor resistencia del organismo hacia los radicales libres que se generan al realizar un ejercicio o esfuerzo de forma aguda (Elokda y col., 2005).

En personas sanas se ha observado un aumento del potencial antioxidante y una reducción de la peroxidación lipídica tras las sesiones de entrenamiento físico habitual (Karolkiewicz y col., 2003).

Existen evidencias de que el ejercicio regular aumenta la defensa antioxidante al aumentar la actividad de la SOD (Campo y col., 2005; Fukai, 2007). Golbidi y colaboradores (Golbidi y col., 2012) observaron un incremento en la producción de Cu/Zn SOD tras sesiones regulares de ejercicio de baja intensidad, mientras que sesiones de ejercicio de intensidad moderada, basado principalmente en la resistencia, aumentan la producción de Mn SOD. Se cree que, incluso a corto plazo, las sesiones de ejercicio moderado pueden tener un impacto significativo sobre el aumento de los niveles de SOD en el miocardio, estando este ejercicio especialmente indicado tras un

IAM ya que mejora el pronóstico de la lesión isquémica y la reperfusión de la zona infartada (Yamashita y col., 1999; Demirel y col., 2001; Brown y col., 2003).

1.8. Prevención cardiovascular.

Numerosos estudios, como el estudio MONICA o diversos estudios migratorios, demuestran que son los factores de riesgo modificables, principalmente los relacionados con el estilo de vida, los responsables de la mayor parte de la morbilidad y mortalidad por ECVs (Kuulasmaa y col., 2000).

Tener un estilo de vida saludable, que englobe una dieta sana y equilibrada, así como el mantenimiento de una vida activa, con ejercicio regular y adaptado al estado fisiopatológico de la persona, disminuye el riesgo de padecer ECVs. Por ello es importante la adaptación de dichos hábitos por la población en general, pero especialmente por la población con mayor riesgo de padecer estas enfermedades.

La prevención primaria de las ECVs está basada en tres puntos: dieta, ejercicio y eliminación o mejora de los factores de riesgo tales como el tabaco.

En la prevención secundaria la intervención sobre el estilo de vida del paciente es mayor ya que esta se lleva a cabo sobre pacientes que ya padecen una ECV y poseen por tanto un elevado riesgo de padecer un evento CV (Baena-Díez y col., 2009). A este nivel, la prevención se centra en disminuir el riesgo de recurrencia de la ECV y evitar la mortalidad. Para ello, se llevan a cabo cambios en el estilo de vida más profundos y controlados que los llevados a cabo en la prevención primaria, dieta y ejercicio, así como la disminución y eliminación de los factores de riesgo, conjuntamente al tratamiento farmacológico.

La educación sanitaria también es un punto importante a destacar, ya que se les proporciona a los pacientes conocimientos para entender su enfermedad, los factores de riesgo y la necesidad de cambiar su estilo de vida, siendo gran parte de los cambios conseguidos gracias a esta labor educativa. Es en este nivel, cuando el paciente ya padece la ECV e incluso ha podido sufrir uno o varios eventos CV, cuando hablamos de rehabilitación cardiaca.

PROGRAMAS DE REHABILITACIÓN CARDÍACA. La OMS define la rehabilitación cardiaca como *“suma de las actividades necesarias para asegurar al paciente cardiológico la*

mejor condición física, mental y social que le permitan volver a tomar un lugar tan normal como sea posible en la vida de la comunidad”

La importancia de las ECVs plantea varios retos a la sociedad, y a la comunidad médica en particular:

- ❖ Modificar saludablemente los estilos de vida desde la infancia.
- ❖ Optimizar los recursos preventivos y asistenciales para reducir el impacto de estas enfermedades en la salud de los ciudadanos.
- ❖ Instaurar una formación multidisciplinaria en medicina cardiovascular que posibilite la atención integral a pacientes que, por definición, tienen enfermedades sistémicas.
- ❖ Desarrollar un modelo de investigación que haga posible la aplicación de los recursos científicos actuales a la generación de conocimientos innovadores con traducción sanitaria real.

Una interesante novedad en el campo de la prevención secundaria de las ECVs en países europeos es la implantación de unidades y programas de rehabilitación cardiaca (PRC) cuyos beneficios se han puesto de manifiesto en diversos estudios:

Aoun y Rosenberg (2004) evalúan el impacto de los PRC en la calidad de vida, comportamiento dietético, pérdida de peso y actividad física de pacientes con ECVs o en riesgo de padecerlas. La evaluación se realizó sobre un grupo con un seguimiento a los 3, 6 y 12 meses después de completar el PRC. Con un estudio de corte transversal de los no participantes como grupo de comparación. El PRC consistió en 7 semanas de sesiones de educación y ejercicio físico. Los pacientes que realizaron el PRC manifestaron una mejora significativa de su calidad de vida, cumplimiento terapéutico, hábitos dietéticos, pérdida de peso y actividad física, así como un mejor comportamiento relacionado con la salud, una mejora en el seguimiento de dieta y ejercicio, en la ingesta de grasas en la dieta, en el conocimiento de sus ECVs y la mejor calidad de vida, en comparación con los que no participaron en ellos (Aoun y Rosenberg, 2004).

Taylor y col. (2004) realizaron una revisión del efecto del ejercicio en los PRC en pacientes con enfermedad coronaria. Comparando distintos estudios llegaron a la conclusión de que la rehabilitación cardiaca estaba asociada con la reducción de todos

los casos de morbilidad y mortalidad cardiaca con mayores reducciones en el nivel de colesterol total, en el nivel de triglicéridos y en la presión sistólica sanguínea, así como menores tasas de tabaquismo reportadas por los propios pacientes. Sin embargo, no encontraron diferencias significativas en las tasas de infarto de miocardio no fatal y revascularización, en los cambios en los niveles de colesterol de las lipoproteínas de alta y baja densidad y en la presión diastólica. Los efectos de la rehabilitación cardiaca en la mortalidad total eran independientes de la enfermedad coronaria, tipo de PRC, dosis de ejercicio realizado, duración del seguimiento, calidad del ensayo y fecha de la publicación de ensayos. En conclusión, esta revisión confirma los beneficios del ejercicio en los PRC dentro del contexto de la prestación de servicios cardiovasculares diarios.

Piotrowicz y Wolszakiewicz (2008) proporcionan una visión general de las recomendaciones sobre rehabilitación cardiaca tras un infarto de miocardio y su aplicación clínica. Las evidencias demuestran que ejercicio físico básico tras un episodio cardiaco posiblemente afecte al alcance de la discapacidad (secuelas) y el nivel de calidad de vida, y parece ser importante en la modificación de la morbilidad y mortalidad.

Actualmente los PRC son un componente integral de la atención al paciente cuando ha sido objeto de un infarto de miocardio, después de procesos invasivos coronarios y angina crónica estable.

La Sociedad Americana de Rehabilitación Cardiopulmonar define como objetivos de los programas de rehabilitación cardiaca:

- ❖ Restablecer la salud física, emocional y psicosocial del enfermo cardíaco.
- ❖ Asegurar la prevención primaria y secundaria en los enfermos de alto riesgo coronario.
- ❖ Reducir la sintomatología, la morbilidad y la mortalidad cardíaca.

Para ello los PRC deben incluir diferentes componentes: evaluación clínica, optimización de la farmacoterapia, entrenamiento físico, evaluación y reducción de los factores de riesgo de la enfermedad coronaria, modificación del estilo de vida, y educación al paciente.

Además los PRC deben estar dirigido por un equipo sanitario (medico, fisioterapeutas, enfermera, psicólogos, dietista y trabajador social) inmediatamente después de la fase aguda del infarto de miocardio y debería contar con programas individualizados para conseguir resultados óptimos físicos, psicológicos, sociales y emocionales.

Los modelos modernos de PRC deben de iniciarse lo más temprano posible, continuarlos por el tiempo que se requiera y deben estar adecuadamente organizados e individualizados dependiendo del estado clínico del paciente. Distinguimos por ello tres fases diferentes en la rehabilitación (Pinson, 2001):

Fases de la rehabilitación cardíaca.

FASE I O FASE INTRAHOSPITALARIA. Comienza con la movilización temprana del paciente, si este se encuentra clínica y hemodinámicamente estable, estando este aun en el periodo de recuperación. Esto evita las complicaciones que pueden producir un reposo en cama prolongado como la hipotensión ortostática y la trombosis venosa. La actividad física a la que se someterá al paciente es esta fase será isotónica (1-2 MET) y se controlará siempre la frecuencia cardiaca, que no deberá exceder los 120 latidos por minuto, o 20 latidos de la frecuencia basal del paciente. (Río y col., 2005).

El objetivo de esta fase consiste en que el paciente recupere la condición física necesaria para enfrentar los requerimientos básicos una vez abandone el hospital.

La educación sanitaria también comienza en esta fase asesorando al paciente acerca de su enfermedad, los factores de riesgo y en qué medida puede modificarlos, la actividad física permitida, como realizar una dieta adecuada y como seguir correctamente el tratamiento farmacológico, así como los cuidados que a partir de ese momento necesitará en el hogar e información sobre los signos y síntomas de alarma a los que debe estar pendiente para que, en el caso de un nuevo evento cardiovascular, se acuda al médico con la mayor brevedad posible.

FASE II O FASE EXTRAHOSPITALARIA. Esta fase comienza tras el alta hospitalaria y se llevará a cabo en un centro de rehabilitación cardíaca. Los pacientes con riesgo elevado y moderado realizarán sesiones de ejercicio físico adaptado a su situación

clínica pretendiendo aumentar la capacidad funcional de estos pacientes, adaptándose a ejercicios de mayor intensidad y mejorando la capacidad aeróbica de los pacientes. (Kavanagh y col., 2002; Velasco y col., 2004). Los pacientes con riesgo moderado, cuya capacidad funcional es normal, el entrenamiento físico tendrá como finalidad evitar el sedentarismo. Por tanto cada entrenamiento tendrá una frecuencia, intensidad, duración y progresión dependiendo de las condiciones del paciente.

En esta fase el paciente aún necesita monitorización electrocardiográfica durante las sesiones.

Con el fin de optimizar este entrenamiento físico personalizado se realizan estudios para valorar el riesgo del paciente, su estado clínico y las complicaciones potenciales que puedan presentarse. Estarán incluidos aquí electrocardiogramas, pruebas de esfuerzo y análisis de sangre, entre otros.

Una vez valorado el riesgo realizaremos un seguimiento del paciente con monitorización electrocardiográfica, clínica y hemodinámica, antes, durante y tras el ejercicio.

Con respecto a la educación sanitaria, en esta fase intentaremos modificar los factores de riesgo mediante sesiones de información y consejo sanitarios. Se realizarán también sesiones de apoyo psicosocial con el fin de favorecer la reincorporación del paciente a un ritmo de vida normal, dentro de sus capacidades, consiguiendo así que el paciente consiga desarrollar actividades cotidianas y pueda reincorporarse a su actividad laboral. Con el fin de que este asesoramiento sea lo más completo posible lo recibirán tanto los pacientes como sus familiares más cercanos.

FASE III O FASE DE MANTENIMIENTO. En esta fase el paciente sigue realizando el plan de entrenamiento que se le ha confeccionado en la fase II pero de forma independiente. Se le enseñará a moderar el ejercicio controlando la frecuencia cardiaca. Intentamos así que no se pierda la capacidad funcional obtenida en la fase II.

En distintos estudios se ha demostrado que es preferible que el paciente entre a formar parte de un grupo de rehabilitación cardiaca de fase III. De

esta manera el paciente no se encuentra solo en este proceso de rehabilitación, cuyo mantenimiento se debe tener en cuenta ya de por vida, y se facilita así su seguimiento y cumplimiento. Por otra parte la salud del paciente estará más controlada ya que con regularidad asistirá a un centro de rehabilitación cardiaca de fase III para que controle y valore el ejercicio que realiza de forma independiente, así como su tensión, parámetros clínicos y tratamiento farmacológico.

Además en estos grupos de rehabilitación se seguirán realizando sesiones informativas y educativas, consejos dietéticos y de ejercicio físico, así como sesiones de apoyo psicológico.

Vemos por tanto que los PRC aportan grandes beneficios al paciente que lo realiza. Según la NHS Centre for Reviews and Dissemination University of York, los PRC producen los siguientes beneficios:

- ❖ Mejora de la sintomatología cardiovascular.
- ❖ Mejora del perfil lipídico.
- ❖ Mejora de la tolerancia al ejercicio.
- ❖ Reducción del estrés.
- ❖ Mejora del bienestar psicosocial y en la adaptación social.
- ❖ Reducción de los factores de riesgo, por ejemplo, abandono del hábito de fumar.
- ❖ Disminución de la mortalidad.

A pesar de todo esto España es el país en el que menos pacientes realizan programas de rehabilitación cardiaca. Actualmente solo el 3% de los pacientes con ECVs en España participan en PRC (León-Latre y col., 2009).

Los estudios llevados a cabo por Márquez-Calderón y colaboradores (Márquez-Calderón y col., 2003) sobre los PRC del Sistema Nacional de Salud Español muestran que:

- ❖ Las unidades de rehabilitación cardíaca públicas se concentran en Madrid, Cataluña y Andalucía.

- ❖ El 91% de los encuestados consideraban que el grado de desarrollo de la rehabilitación cardíaca en España era muy escaso.
- ❖ A pesar de que el 83% de los pacientes cardíacos cumplían los criterios de inclusión para intervenir en los PRC, tan sólo se les ofertó al 53% de ellos. Las razones para no ofertarlos a todos los pacientes fueron: falta de espacio y de personal, ausencia de financiación, dificultades de desplazamiento y problemas de coordinación
- ❖ Tan sólo el 10-19% del total de los pacientes que participaban en los PRC eran mujeres.
- ❖ Era escasa la participación de los médicos a tiempo completo en los PRC. Los médicos más implicados eran los cardiólogos, siendo excepcional la implicación de los médicos de familia y psiquiatras. Los profesionales que más participan son los fisioterapeutas, siendo menor la intervención de los trabajadores sociales y nutricionistas y nula en el caso de los terapeutas ocupacionales.
- ❖ Sin embargo, en otros países europeos los PRC se encuentran más aceptados y desarrollados. Así pues, en Austria el 95% de los pacientes tiene cobertura en la fase II, el 60% en Holanda y el 30% en Dinamarca (Vanhees y col., 2002).

2. Objetivos

Las enfermedades cardiovasculares (ECVs) representan la primera causa de morbilidad y mortalidad en países desarrollados, incluido España. Debido a su alta prevalencia y alto coste económico que supone su tratamiento, la prevención y diagnóstico de estas enfermedades suponen un gran desafío social y sanitario.

Cada vez son más numerosas las unidades y programas de rehabilitación cardiaca (PRC) instaladas en Europa, cuyos beneficios están avalados por numerosos estudios epidemiológicos. Sin embargo, a pesar de los conocidos beneficios de la rehabilitación cardiaca, España es el país de Europa en que menos pacientes realizan PRC por lo que es imprescindible conseguir potenciar los PRC como forma de prevención de las ECVs.

Estos antecedentes nos han llevado a profundizar más, estudiando los mecanismos de defensa enzimática antioxidante, procesos de peroxidación lipídica, valoración antropométrica, clínica, bioquímica y nutricional en un grupo de pacientes coronarios, que han seguido o no un PRC, basado en ejercicio físico y adaptación de hábitos de vida cardiosaludables.

La hipótesis principal de esta Memoria de Tesis pretende potenciar la implantación de PRC como forma de mejorar las ECVs y prevenir nuevos eventos cardiovasculares o cerebrovasculares, además de comprobar los efectos de estas patologías en la defensa antioxidante del organismo

3. Metodología

3.1. Descripción de la muestra.

El estudio se ha realizado en sujetos que han sufrido un evento cardiovascular y que pertenecen a la Asociación de Pacientes Cardíacos de Granada y Provincia (miembro de la Federación Andaluza de Asociaciones de Enfermos del Corazón).

Los sujetos se dividieron en 2 grupos, de forma no aleatoria, según quisieran o no formar parte de un Programa de Rehabilitación Cardíaca (PRC):

- ❖ Grupo PRC: formado por 88 pacientes que siguen un PRC.
- ❖ Grupo NO PRC: formado por 72 pacientes que no siguen el PRC.

Al inicio del estudio se llevó a cabo una entrevista personal con cada uno de los sujetos y, a los que cumplían los criterios de inclusión, se les invitó a participar en el mismo, de forma que el asistir o no al programa de rehabilitación depende de la propia iniciativa de los sujetos tras ser debidamente informados.

Tras 12 meses de seguimiento del Programa de Rehabilitación, se llevó a cabo la valoración antropométrica, clínica, bioquímica y nutricional. Para ello se citó a cada sujeto participante para realizar una entrevista, de aproximadamente una hora, durante la cual se cumplimentaron tres modalidades de cuestionarios que recogían información relativa a datos personales, hábitos de vida, ingesta dietética y tipo de actividad física diaria. La finalidad de estas encuestas es realizar un control de los factores de riesgo relacionados con la patología cardiovascular. Además, se realizó una toma de sangre a cada sujeto para realizar estudio hematológico y bioquímico.

- a. **Encuesta nutricional de poblaciones y recordatorio de 24 horas sobre el consumo de alimentos.**

Con esta encuesta, elaborada por el Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Granada para la Valoración del Estado Nutricional de la Población Andaluza (Mataix y col., 2000), podemos recoger los datos personales y de hábitos de vida y recordatorio de 24 horas sobre el consumo de alimentos.

Se añadieron además algunas preguntas a la encuesta, en base a los factores de riesgo cardiovasculares en España (Villar y col., 2007). Estas preguntas fueron:

- ❖ Conocimiento sobre sus factores de riesgo cardiovasculares.
- ❖ Medidas preventivas adoptadas para mejorar su salud cardiovascular (alimentación y/o ejercicio).
- ❖ Control de la presión arterial y medida de los niveles de colesterol sanguíneo. Intervalo de tiempo en el que se miden ambos parámetros.
- ❖ Preferencia y aversión a algún tipo de alimento.
- ❖ Conocimiento de los alimentos saludables y si se tienen en consideración a la hora de hacer la cesta de la compra.
- ❖ Preferencia de actividad deportiva.
- ❖ Autopercepción sobre si su vida es suficientemente activa.
- ❖ Horas de sueño y sueño reparador.
- ❖ Asesoramiento sobre los hábitos de vida.
- ❖ Autopercepción del estado de salud general.

El recordatorio de 24 horas sobre el consumo de alimentos nos permite recopilar información sobre la ingesta de alimentos reciente, del día anterior y de un tercer día siendo este último festivo o bien basándose en un día en el que la ingesta ha sido “especial” o alejada del consumo habitual.

b. Encuesta de frecuencia de consumo de alimentos

Esta encuesta nos permite determinar la frecuencia con la que el paciente consume los determinados grupos de alimentos (pan, carne, pescado, verduras...). Basándose en un intervalo de tiempo semanal.

La duración de la encuesta fue de 10 minutos en la mayoría de los casos.

c. Encuesta de Actividad Física

Con este cuestionario podremos recoger datos de la actividad física realizada por los pacientes en su vida diaria.

Hemos utilizado el Cuestionario Internacional de Actividad Física (IPAQ) (Craig y col., 2003; Hagstromer y col., 2006).

El estudio tiene informe positivo del Comité de Ética de la Universidad de Granada y se obtuvo el consentimiento firmado de cada sujeto participante.

3.1.1. Edad.

Con referencia a la edad, el paciente más joven del estudio tiene 42 años mientras que el de más edad tiene 92. Debido a esta diferencia entre la edad de los pacientes hemos realizado dos grupos:

- ❖ Grupo de pacientes que tiene entre 40 y 60 años, compuesto por el 42.5% de los pacientes del estudio (n=68).
- ❖ Grupo de pacientes mayores de 60 años, compuesto por el 57.5% de los pacientes del estudio (n=92).

3.2. Programa de rehabilitación cardiaca.

3.2.1 Descripción del PRC.

En la sede de la Asociación de Pacientes Cardíacos de Granada y su Provincia se realizó el PRC de fase III, el cual consta de:

- ❖ Una parte informativa y formativa sobre hábitos de vida cardiosaludables. Dándosele a los pacientes información sobre su enfermedad, consejos sobre alimentación saludable y recomendaciones sobre ejercicio seguro. Así como sesiones de relajación y apoyo psicológico.
- ❖ Un programa de ejercicio físico que incluye sesiones, tres-cinco días a la semana, dependiendo del nivel de condición física de cada paciente, y un día a la semana dedicado a la práctica de yoga. La prescripción del ejercicio es supervisada por un cardiólogo que determina las cargas según el nivel de daño cardiovascular y es dirigido y supervisado posteriormente por un fisioterapeuta.

3.2.2. Ejercicio desarrollado en el PRC.

Podemos dividir el ejercicio realizado en el PRC en cuatro fases:

- A. **FASE DE CALENTAMIENTO O MOVILIZACIÓN.** El calentamiento será progresivo en intensidad y en grupos musculares utilizados, produciéndose así la elevación progresiva de la temperatura corporal y disminuyendo las resistencias para hacer el ejercicio más eficaz energéticamente y retrasando la aparición de la fatiga.

En esta parte realizaremos los siguientes movimientos en orden:

- ❖ Rotación de los tobillos.
- ❖ Flexo extensión de la rodilla y la cadera.
- ❖ Rotación de cadera.
- ❖ Movilización de la columna lumbar.
- ❖ Movilización de la columna en rotación, en lateralidad y flexo-extensión.
- ❖ Movilización en todos los planos y estiramiento de cuello o columna cervical.
- ❖ Movilización del complejo articular del hombro y estiramiento de la musculatura periarticular.
- ❖ Estiramientos de los músculos gemelos, cuádriceps, isquiotibiales, abductores y glúteos.

B. FASE DE EJERCICIOS DE ADAPTACIÓN MUSCULAR. Con el objetivo de mejorar el tono del músculo para evitar que aparezcan contracturas que aumenten las resistencias periféricas y el riesgo coronario. Se utilizará el propio peso del paciente al principio y, cuando el tono muscular mejore, podrá incluir otros elementos como cuerdas elásticas o pesos, siempre y cuando la patología del paciente lo permita.

Utilizando pesas de un kilogramo, se realizan ejercicios de apertura y elevación de los miembros superiores combinados con la inspiración para producir una expansión toraco-pulmonar y así conseguir una mayor oxigenación volviendo después a la posición de partida o normal con la espiración.

C. FASE DE ENTRENAMIENTO CARDIOVASCULAR Y EXPANSIÓN

TORACOPULMONAR CON EJERCICIOS REALIZADOS EN EL SUELO. Consiste en ganar tono muscular consiguiendo un fortalecimiento muscular (glúteos, abdominales superiores, inferiores, oblicuos, espinales).

Se realizan estiramientos por cadena muscular, es decir, de todos los músculos (posterior, lateral). De esta manera, se estiran los músculos pectorales, espinales, glúteos, medios, entre otros. Asimismo, se realizan estiramientos de la cadena posterior del cuerpo (isquiotibiales, espalda, etc.).

D. FASE DE EJERCICIOS DINÁMICOS. Consiste en un ejercicio de carácter

aeróbico mediante cinta, bicicleta estática y elíptica. Tiene una duración de 30 minutos y cada paciente lo realiza a la frecuencia cardíaca estipulada por el cardiólogo en base a una fórmula después de realizar una ergometría o prueba de esfuerzo.

Por último y para finalizar el programa, se llevan a cabo ejercicios de relajación combinados con ejercicios respiratorios.

3.3. Estudio clínico y funcional.

El estudio clínico y funcional consta de:

3.3.1. Control de parámetros hematológicos y bioquímicos:

TOMA DE MUESTRA DE SANGRE. Se realizó en la sede de la asociación a primera hora de la mañana y en ayunas. Se extraen 10 ml a cada paciente en tubos BD Vacutainer (Becton Drive, Franklin Lakes, USA) con anticoagulante (EDTA 1mg/ml)

y se transportaron a 4°C, de forma inmediata a la Escuela de Análisis Clínicos de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada donde se realiza el análisis hematológico y bioquímico.

DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS. Se obtuvieron mediante el Autoanalizador RA 1000 (Technicon Corporation, NY, USA). Se utilizó un control SPINTROL H NORMAL de suero humano (Spinreact, Barcelona, España) para calibrar el aparato. Para la determinación de la glucosa basal, colesterol total, colesterol HDL y triglicéridos se utilizó una técnica enzimática colorimétrica. El colesterol LDL se determinó mediante la fórmula:

$$\diamond \text{ Colesterol LDL} = \text{Colesterol Total} - ((\text{Trigliceridos}/5) + \text{HDL})$$

DETERMINACIONES HEMATOLÓGICAS. Se realizaron con el autoanalizador hematológico Sysmex KX21 (Sysmex Corporation, Tokio, Japón).

3.3.2. Estudio antropométrico.

PESO. Se determinó en una báscula tradicional, en kilogramos, en la propia asociación. Se dispuso a cada paciente descalzo y en bipedestación sobre la báscula.

TALLA. Se tomó mediante en la misma asociación. Se dispuso a cada paciente descalzo y en bipedestación, con el cuerpo erguido y la cabeza recta, de espaldas al tallímetro, con pies y odillas juntas. Se descendía la escuadra hasta que tocase con el punto más elevado de la cabeza y se tomaba el resultado en centímetros.

ÍNDICE DE MASA CORPORAL (IMC). Calculado mediante la fórmula:

$$\diamond \text{ IMC} = \text{Peso(Kg)}/\text{talla}^2(\text{m})$$

3.3.3. Estudio clínico.

Presión Arterial. La presión arterial se obtuvo con un tensiómetro de manguito braquial, en posición de sedestación.

3.4. Estudio del estrés oxidativo.

Los distintos parámetros relacionados con el estrés oxidativo fueron medidos en el Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos “José Mataix” de la Universidad de Granada.

Se analizó el plasma sanguíneo de los pacientes para determinar la actividad enzimática de CAT, SOD y GPx y se valoró el grado de peroxidación lipídica mediante la técnica TBARs.

3.4.1. Determinación de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARs).

FUNDAMENTO. El método TBARs es el más empleado para la determinación de malondialdehído (MDA) originado en las últimas etapas de la peroxidación lipídica, en las muestras biológicas. Este método, descrito por Buege y Aust (1978), consiste en la medición espectrofotométrica de las sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico (TBA), basándose en la reacción estequiométrica de dos moléculas de TBA con una molécula de MDA para formar un producto rosado el cual tiene su máximo de absorbancia a una longitud de onda de 532 nm en solución ácida, pH=2.

MUESTRA. Plasma.

REACTIVOS:

- ❖ **Solución TBARS:** preparación extemporánea. El volumen a preparar depende del número de muestras a determinar. La composición para 100 ml es:

	100 ml
TBA	0,375 g
Agua desionizada	82,5 ml
HCl 37%	2,5 ml
TCA*	15 ml

* El TCA es sólido, se pesan 7,5 g y se diluyen en 100 ml de agua desionizada.

- ❖ **PBS concentración 1x.**

TÉCNICA. Tomamos la cantidad necesaria de plasma, diluida convenientemente, y la mezclamos con 1 ml de solución TBARS. Calentamos en aproximadamente 20 minutos a 100°C, se enfría en corriente de agua. Centrifugamos a 3,000 rpm, 15 minutos. Extraemos el sobrenadante y medimos en espectrofotómetro (Thermo Spectronic, Rochester, NY, USA) a 532nm. El ensayo se calibra usando una curva de tetraetoxipropano (TEP) (Sigma-Aldrich, Buchs, Switzerland) como fuente de malondialdehído (MDA). Otras sustancias originadas en la peroxidación lipídica tales como alcanos, alquenos y alquinos también reaccionan con TBA por lo que normalmente los resultados de la reacción se expresan como concentración de TBARS y no de MDA. Los resultados se expresan como nmol/mg proteína.

3.4.2. Actividad de catalasa (CAT).

FUNDAMENTO. La actividad del enzima catalasa se ha medido midió por el método de Aebi (Aebi H., 1984). Este método se basa en la acción inhibidora de la catalasa sobre la reacción oxidativa de peróxido de hidrógeno (H_2O_2).

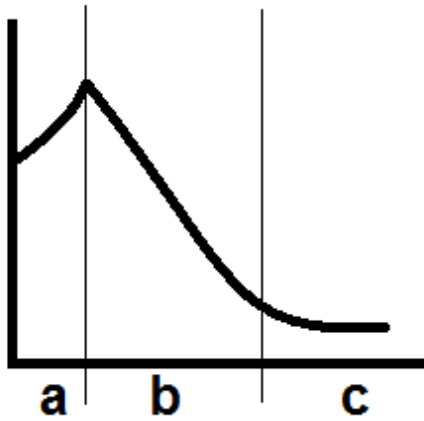
La cinética de esta enzima no sigue las reglas normales ya que se ve inactivada por concentraciones de H_2O_2 superiores a 1M, por lo tanto la determinación de su actividad se lleva a cabo en con una concentración muy baja de H_2O_2 (0.001M) para evitar una caída demasiado rápida en el inicio de la reacción. Gracias a esta baja concentración de peróxido de hidrógeno la cinética será de primer orden dentro del primer minuto de la reacción.

La actividad de esta enzima se midió en el espectrofotómetro modelo utilizando microplacas Falcon debido a la longitud de onda de medida.

REACTIVOS:

- ❖ Tampón fosfato (50mM, pH 7,0).
- ❖ Peróxido de Hidrógeno (30 mM).

TÉCNICA. Utilizamos una microplaca Falcon. En cada pocillo añadimos 10 μ l de muestra y 90 μ l de tampón fosfato. Preparamos 2 blancos, blanco tampón (150 μ l de tampón fosfato) y blanco reactivo (100 μ l de tampón fosfato). Se agita y se observa el descenso de absorbancia de H_2O_2 a 240 nm durante 60 segundos a 20°C. Se obtiene una curva del tipo:



- a. Pequeño aumento inicial en la actividad de la catalasa.
- b. Descenso más o menos constante.
- c. Zona de valor constante debido a la pérdida de la actividad de la encima.

Estudiamos principalmente el descenso que ocurre en la zona más lineal de la curva dentro de los primeros 30 segundos.

CÁLCULOS:

1. Calculamos la actividad por incremento de tiempo (tomamos siempre 20 segundo de la zona más lineal de la curva):

$$k = (2.3 / \Delta T) (\log S_1 / S_2)$$

ΔT = incremento de tiempo entre los puntos S1

y S2

S1 = punto inicial de la curva

S2 = punto final de la curva

Actividad específica=K/ml=K/a=K/30

a=Volumen final del pocillo/ Volumen de muestra en cada pocillo= 150 μ l/5 μ l=30

2. Los resultados se expresan en K/mg proteína en la muestra:

$$\diamond (K/ml)/(mg \text{ proteína/ml})= K/mg \text{ proteína}$$

3.4.3. Actividad superóxido dismutasa (SOD).

FUNDAMENTO. El método utilizado está basado en la técnica original de McCord y Fridovich (1969), aunque con ligeras modificaciones.

Utiliza el sistema xantina-xantina oxidasa como generador de anión superóxido (O_2^-) y la reducción de citocromo C por éste radical es monitorizada a 550nm. La inhibición de ésta reducción por la SOD es usada para medir la actividad del enzima. Es importante la eliminación previa de la hemoglobina de las muestras. La SOD compite con el citocromo C por el radical O_2^- , por lo que al añadir la muestra, la SOD de la muestra reacciona con éstos radicales y el citocromo no se puede reducir por lo que disminuye la absorbancia.

Lo que desencadena la reacción es la xantina-oxidasa (que cataliza el paso de hipoxantina a ácido úrico, liberando anión superóxido) por lo que hay que buscar la cantidad de enzima adecuada para conseguir incrementos de entre 0,025 a 0,05 de Abs/min). Una vez comprobada la cantidad de xantina-oxidasa, ya tenemos el sistema patrón. A continuación hacemos lo mismo con la muestra.

REACTIVOS:

a. Tampón Carbonato/Bicarbonato sódico (T) 20mM pH 10.

❖ Na_2CO_3 0,02M (PM=105,99).

❖ NaHCO_3 0,02M (PM=84,01).

❖ EDTA sal disodica 0,001M (PM=372,24).

b. Solución de Xantina 05 mM.

c. Citocromo C 0,1M.

d. Solución de Xantina-Oxidasa (0,2U/ml).

FUNDAMENTO. Se añaden distintas cantidades de Xantina-Oxidasa, empezando por 6 μl hasta que encontremos una cantidad de xantina-oxidasa que nos de el incremento de absorbancia deseado (entre 0.025 y 0,050 abs/min). Se agita y mide inmediatamente a 550 nm de longitud de onda. Monitorizamos el incremento de absorbancia de 1 a 2 minutos a 25°C

El espectro resultante se utiliza como patrón para saber la cantidad de SOD que se corresponde con la unidad, considerando el descenso de citocromo c igual al incremento de absorbancia y como el 100% y sabiendo que la unidad representa una inhibición del 50%. En cada pocillo se añadimos 162,5 μl de tampón con azida, 25 μl solución de Xantina, 25 μl solución Citocromo C y la cantidad necesaria de muestra

Agitar y añadir la cantidad de Xantina-Oxidasa determinada anteriormente justo antes de medir. Monitorizar el incremento de absorbancia a 550 nm de 1 a 2 minutos a 25°C

CÁLCULOS.

Las U/ml de SOD hay que ajustarla según el coeficiente de extinción molar de la cubeta.

En nuestro caso este coeficiente es 0.02. Por lo tanto:

$$U/ml = U/ml \text{ sin ajustar} \times 0.02$$

Expresamos el resultado en función de la cantidad de proteína de la muestra:

$$\diamond U/mg \text{ proteina} = (U/ml)/\text{proteina (mg/ml)}.$$

3.4.4. Actividad glutatión peroxidasa (GPx).

La actividad de esta enzima se determina a 25°C, mediante un método indirecto descrito previamente (Flohé y Gunzler, 1984). La glutatión peroxidasa cataliza la oxidación de hidroperóxidos, incluido el peróxido de hidrógeno, al reducir al glutatión protegiendo así a las células del estrés oxidativo. Con la excepción de la GPx fosfolípido hidroperóxido, que es un monómero, las demás GPx son tetrameros con 4 subunidades idénticas. Cada subunidad contiene una selenocysteína en el sitio activo que participa directamente en la reducción de los electrones del sustrato enzimático. La enzima utiliza al glutatión como último donante de electrones para regenerar la forma reducida de la selenocysteína.

FUNDAMENTO. El glutatión oxidado (GSSG), producido sobre la reducción de hidroperóxido por la GPx, es reciclado a su estado reducido por la GR+NADPH. La oxidación de NADPH a NADP⁺ se acompaña de un descenso de absorbancia a 240 nm. La velocidad de descenso de absorbancia es proporcional a la actividad de GPx en la muestra (Flohé L., Gunzler W.A., 1984).

El descenso de absorbancia de los pocillos muestra debe estar entre 0.02 y 0.135 abs/min. Cuando sea necesario podemos diluir las muestras con Tampón muestra para conseguir que el descenso de absorbancia entre dentro de este rango.

Se procede posteriormente a la monitorización espectrofotométrica (Thermo Spectronic, Rochester, NY, USA) del descenso de NADPH a 240 nm durante 2 minutos, enfrentada a un blanco con un contenido igual salvo el H₂O₂. Para eliminar el descenso no enzimático se realiza otra lectura en la que la muestra se reemplaza por tampón, efectuándose dicha lectura frente a un blanco sin muestra ni H₂O₂.

CÁLCULOS.

$$\diamond \text{ Actividad GPx} = ((\text{abs/min}) / 0.00373) \times (0.19/0.02) \times \text{dilución de la muestra} = \text{nmol/min/ml.}$$

3.4.5. Determinación Cuantitativa de Proteínas.

El método está basado en la formación de un complejo coloreado entre el cobre y los nitrógenos de los enlaces peptídicos (reacción de Biuret). Para resaltar este color y hacerlo más estable se hace reaccionar posteriormente con el reactivo Folin que al ser reducido por los residuos aromáticos de Amino ácidos (tirosina y triptófano) da color azul.

CURVA PATRÓN. Se prepara una dilución patrón de proteínas de concentración 2 mg/ml utilizando albúmina bovina.

Tubos	Blanco	1	2	3	4
Agua Bidestilada	1000	950	900	800	700
Albúmina patrón (2 mg/ml)	0	50	100	200	300
Concentración (µg/ml)	0	100	200	400	600

- ❖ Añadir 5 ml de Biuret a cada tubo, agitar y esperar 15 minutos en oscuridad.
- ❖ Añadir 0.5 ml de Folin, agitar y esperar 20 minutos en oscuridad.
- ❖ Medir absorbancia a 640 nm y construir la curva patrón.

3.5. Análisis estadístico.

Los datos se presentan como valor medio \pm EEM. Para comprobar las diferencias entre grupos (pacientes que realizan rehabilitación cardiaca frente a aquellos que no la llevan a cabo) se usa el test de la “*t* de Student” para muestras independientes. Se usa el análisis de la varianza (One-Way ANOVA) para evaluar el efecto del programa de Rehabilitación cardiaca. Las medias individuales se compararon usando el test “post hoc” de Tukey, cuando los efectos principales y sus interacciones resultaban significativas. Las diferencias son consideradas significativas a un nivel de $P < 0.05$. Los resultados obtenidos de la determinación cuantitativa de la PCR, así como los datos correspondientes a las encuestas sobre hábitos de vida, actividad física y

constantes se procesaron en el programa estadístico “Statistical Package for Social Sciences” version 19.0, 2012 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA.)

El procesamiento de los datos ha permitido establecer rangos dentro de los sujetos del estudio dependiendo del riesgo de sufrir un nuevo evento cardiovascular según sus niveles de PCR. Se ha considerado que valores mayores a 3 mg/l de PCR determinan un riesgo muy elevado de sufrir un nuevo episodio, valores de PCR entre 3-1 mg/l proporcionan un riesgo elevado y valores de PCR < 1 mg/l se consideran valores dentro de la normalidad, aunque siempre que el valor se aleje de 0 mg/l debemos considerar algún riesgo de que el paciente sufra un nuevo evento cardiovascular.

4. Resultados

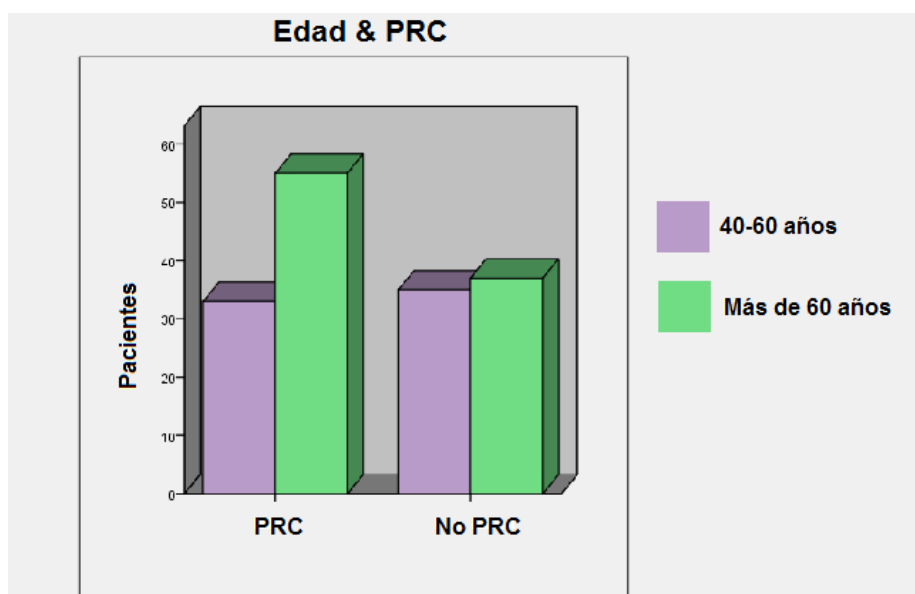
4.1. Resultados de la encuesta de datos personales y hábitos de vida.

4.1.1 Influencia de la edad en la realización del PRC

Para saber la influencia que tiene la edad en la realización o no del PRC por parte de los pacientes vemos el porcentaje de cada grupo que acude o no a dicho programa (Gráfica 1).

En el Grupo PRC el 37.5% de los pacientes tienen entre 40 y 60 años (n=33) y el 62.5% son mayores de 60 años (n=55).

En el Grupo No PRC el 48.6% de los pacientes tienen entre 40 y 60 años (n=35) y 51.4% son mayores de 60 años (n=37).



Gráfica 1. Resultados. Porcentaje de sujetos que participan en el estudio.

Vemos que la edad influye en la realización de la rehabilitación cardiaca, con un grado de significación media (P=0.011).

4.1.2. Conocimiento de los Factores de Riesgo Cardiovascular.

De los 160 pacientes solo el 8.1% (n=13) dice no tener conocimiento de su riesgo cardiovascular, es decir, de cómo sus hábitos de vida, alimentación y ejercicio, pueden afectar al desarrollo y evolución de las ECVs. Un 91.9% (n= 147) afirman tener conocimiento de su riesgo CV.

En el caso de los pacientes que realizan el PRC el 9% (n=8) no tiene conocimiento sobre su riesgo cardiovascular frente al 90.9% (n=80) que dice sí tener conocimiento de sus riesgos. Mientras que en el caso de los pacientes que no realizan la rehabilitación son el 7 % (n=5) los que dicen no poseer este conocimiento frente al 93% (n=67) que dice sí tenerlo. Por tanto, no hay diferencias significativas entre los dos grupos experimentales

4.1.3 Medidas Tomadas para Mejorar la Salud CV.

Los resultados de este ítem de la encuesta indica que el 95.6% de los pacientes dicen tomar medidas al respecto frente a solo el 4.4% que dice no tomar ninguna medida al respecto.

En el grupo que sigue el PRC un 96.5% dice tomar medidas para mejorar su salud CV frente al 3.4% que dice no tomar ninguna medida.

En el grupo No PRC tenemos un 94.4% de pacientes que dicen tomar medidas CV frente a un 5.6% que dice no tomar ninguna medida.

La encuesta realizada nos permite dividir la muestra por grupos según el tipo de medida que han tomado (Tabla 1):

- ❖ No toman ninguna medida para mejorar o cuidar su salud CV

- ❖ Toman la mejora de su alimentación como única medida para mejorar o cuidar su salud CV
- ❖ Realizan ejercicio como única medida para mejorar o cuidar su salud CV
- ❖ Realizan ejercicio a la par que cuidan su alimentación para mejorar o cuidar su salud CV

	Tipo de Medida			
	Ninguna	Alimentación	Ejercicio	Ambas
Grupo PRC	2.3%	2.3%	9.0%	86.4%
Grupo No PRC	5.5%	18.1%	13.9%	62.5%

Tabla 1: Porcentaje de pacientes y tipo de medidas CV adoptadas.

4.2. Resultados de los análisis bioquímicos realizados en sangre.

En la tabla 2 se exponen los resultados correspondientes al grupo PRC y al grupo No PRC:

	Grupo PRC	Grupo No PRC
Glucemia basal	115.94 ± 15.38	127.20 ± 38.59
Triglicéridos	121.22 ± 45.06	155.30 ± 62.40
Colesterol Total	147.69 ± 16.92	157.73 ± 19.69
Colesterol LDL	80.18 ± 29.81	75.58 ± 24.42
Colesterol HDL	46.51 ± 9.19	51.87 ± 9.04

Tabla 2. Parámetros bioquímicos medidos en sangre de los pacientes según sigan o no el PRC (media ± DS)

4.2.1. Glucemia basal.

Dividimos la muestra en tres grupos en función de la glucemia basal:

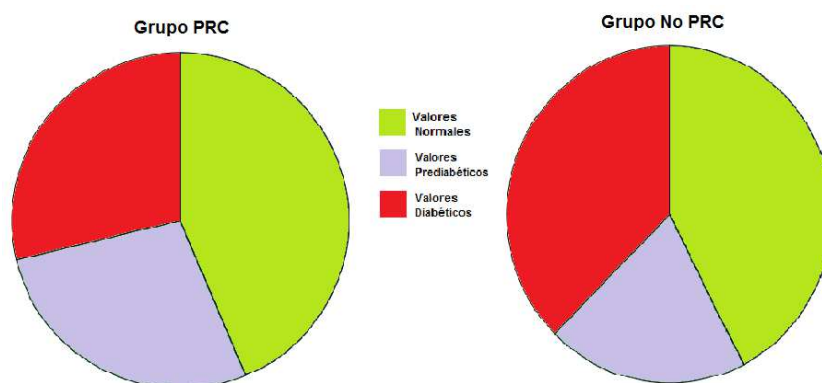
- ❖ Glucemia normal: inferior a 110 mg/dl
- ❖ Glucemia prediabética: 110 – 125 mg/dl (riesgo de diabetes tipo II)
- ❖ Glucemia diabética: superior a 126 mg/dl

Los resultados indican que un 43,3% del total de los pacientes tienen un valor de glucemia normal, un 25.2% de pacientes tienen valores de glucemia correspondientes al estado prediabético y un 31.5% de pacientes son diabéticos.

Al dividir la muestra según el seguimiento o no del PRC vemos que existe un mayor porcentaje de diabéticos en el grupo que no realiza el PRC (tabla 3, Gráfica 2)

Valor de Glucemia			
	Normal	Prediabético	Diabético
Grupo PRC	43.7%	27.6%	28.7%
Grupo No PRC	42.5%	20%	37.5%

Tabla 3. Resultados. Porcentaje de pacientes según el valor de glucemia basal



Gráfica 2. Porcentaje de pacientes según el valor de glucemia basal

El tratamiento estadístico de estos datos (test de la *t* students) indica que existe una relación significativa media entre los valores de glucemia basal y el seguir o no un PRC (P= 0.02).

4.2.2. Triglicéridos.

Dividimos la muestra, según el nivel de triglicéridos (TG) en sangre, en tres grupos:

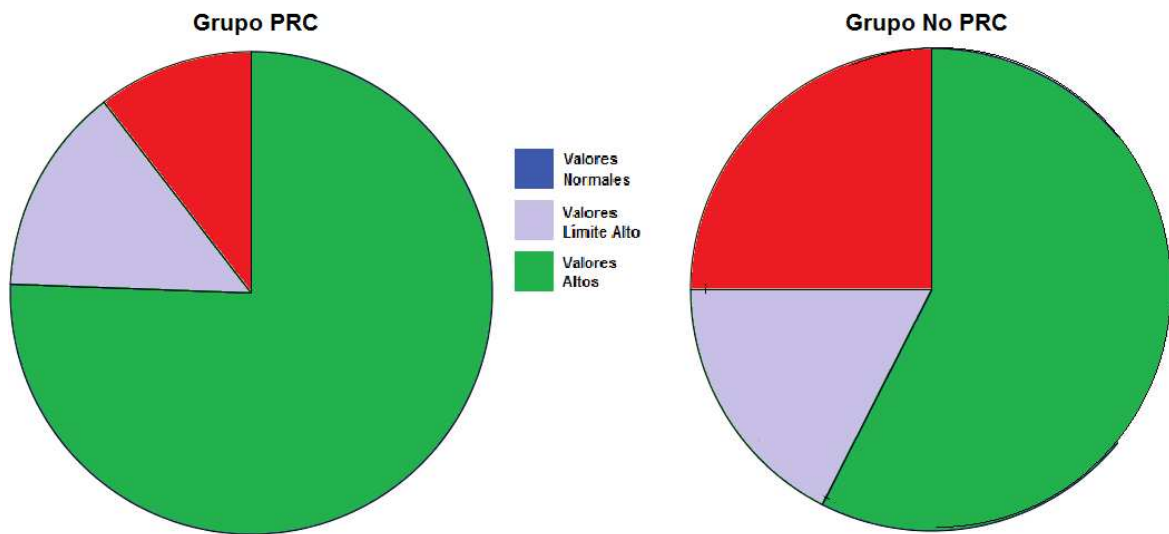
- ❖ TG normales: inferior a 150 mg/dl
- ❖ TG en el límite alto: 150- 199 mg/dl
- ❖ TG altos: 200-499 mg/dl

Según estos rangos el 69.8% de la muestra total estudiada tiene un valor normal de TG, el 15.1% tiene valores de TG en el límite alto y el 15.1 % tiene valores de TG altos. Es decir, que la mayoría de los pacientes tienen unos niveles de TG normales, pero un 30.2% tiene niveles de TG altos o al límite.

Si dividimos la muestra según los pacientes realicen o no el PRC (tabla 4, gráfica 3), Vemos que hay un mayor porcentaje de pacientes que tienen valores normales de TG en el grupo que realiza el PRC (un 75.6% frente a un 57.5%).

NIVELES DE TRIGLICÉRIDOS			
	Normales	Límite Alto	Altos
Grupo PRC	75.6%	14%	10.4%
Grupo No PRC	57.5%	17.5%	25%

Tabla 3. Resultados. Porcentaje de pacientes según los niveles de TG



Gráfica 3. Porcentaje de pacientes según los niveles de TG

El tratamiento estadístico de estos datos (test de la *t* students) indica que existe una relación significativa alta ($P=0.001$) entre realizar el PRC y el nivel de TG en sangre. Es decir, existe un descenso estadísticamente significativo en el nivel de TG entre los pacientes que realizan el PRC con respecto a los pacientes que no lo realizan.

4.2.3. Colesterol.

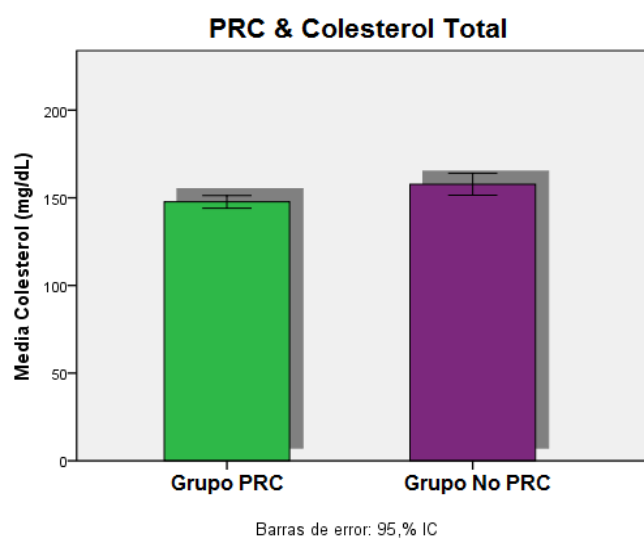
4.2.3.1. Colesterol total.

Dividimos la muestra, según el nivel de colesterol total en sangre, en tres grupos:

- ❖ Colesterol normal: menor a 200 mg/dl
- ❖ Colesterol al límite: 200-239 mg/dl
- ❖ Colesterol alto: mayor a 240 mg/dl

Observamos que tenemos un 3.1% de los pacientes con un nivel alto de colesterol y un 1.6% con niveles en el límite alto. La mayor parte de la muestra total estudiada, un 95.3%, tiene niveles de colesterol total normales.

El tratamiento estadístico de estos datos (test de la *t* students) indica que existe una relación significativa alta entre la realización del PRC y los niveles de colesterol. ($P=0.004$). Es decir que la reducción del colesterol en el grupo que realiza el PRC es significativa.



Gráfica 4. Relación entre el seguimiento o no del PRC y el valor medio de colesterol total plasmático (mg/dl)

4.2.3.2. Colesterol LDL.

Dividimos la muestra total, según los niveles de colesterol LDL en sangre, en cuatro grupos:

- ❖ Valores óptimos: menor a 100 mg/dl
- ❖ Valores cercanos a lo óptimo: entre 100 y 129 mg/dl

- ❖ Valores al límite altos: entre 130 y 159 mg/dl
- ❖ Valores altos: superior a 160 mg/dl

Aquí vemos que, el mayor porcentaje de pacientes tienen los niveles de colesterol óptimos (87.4%) o cercanos a lo óptimo (9.4%). El 1.6% de la muestra tiene valores al límite alto y el 1.6% valores altos.

4.3. Resultados clínicos relacionados con la antropometría y otras medidas.

4.3.1. Índice de Masa Corporal (IMC).

El IMC de los sujetos participantes en el estudio está comprendido entre 21,5 y 44. Si clasificamos los sujetos en función de este índice y según la tabla de la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO, 2007) (Tabla 4), comprobamos que la mayor parte de los pacientes tienen sobrepeso (48.1%) u obesidad grado I (35,6%). Solo encontramos un 6.3% de la muestra con normopeso y el 3% tiene obesidad mórbida o tipo III. No encontramos pacientes con peso insuficiente ni con obesidad extrema (Tabla 5):

IMC	
Peso Insuficiente	<18.5
Normopeso	18,5-24,9
Sobrepeso	25,0-29,9
Obesidad Grado I	30,0-34,5
Obesidad Grado II	35-39,9
Obesidad Grado III o Mórbida	40-49,9
Obesidad Grado IV o Extrema	>50

Tabla 4: Índice de masa corporal según la SEEDO.

IMC	Porcentaje
Normopeso	6.3%
Sobrepeso	48.1%
Obesidad grado I	35.6%
Obesidad Grado II	8.1%
Obesidad Grado III	1.9%

Tabla 5: Distribución de los pacientes por porcentajes según su IMC

INFLUENCIA DEL PRC SOBRE EL IMC. Si comparamos los dos grupos de pacientes según realicen o no el PRC y sus grupos de IMC (Tabla 6, Gráfica 5), observamos que en el Grupo PRC un 5.6% de los pacientes presentan Normopeso frente a un 6.9% del Grupo No PRC.

El 56.8% de los pacientes del Grupo PRC presentan sobrepeso frente al 37.5% del Grupo No PRC.

En el caso de la Obesidad Grado I tenemos un 30.7% en el Grupo PRC frente a un 41.7% en el Grupo No PRC.

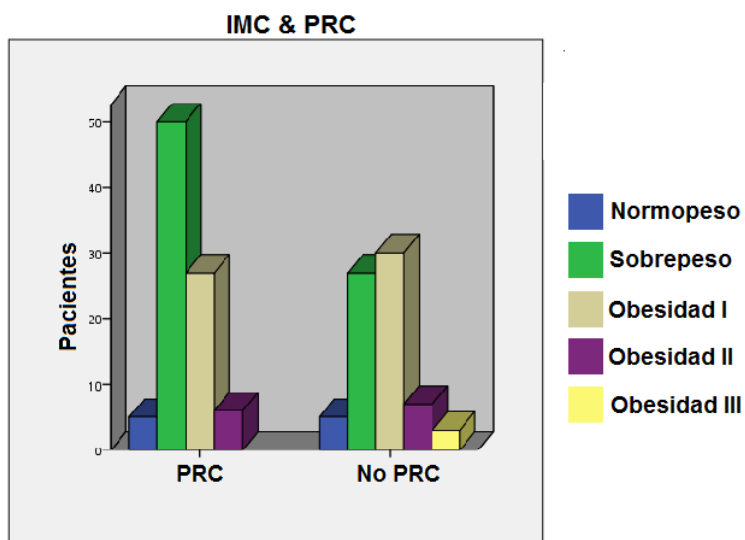
Un 6.8% del Grupo PRC tiene obesidad grado II frente a un 9.7% del Grupo No PRC.

Por último observamos que los sujetos con obesidad mórbida o tipo III se concentran en el grupo que no realiza PRC (un 3%)

Si analizamos estos datos con el test *t* student, comprobamos que existe una relación significativa baja entre la realización de un PRC y el IMC ($P=0.043$)

Tipo de obesidad						
	Normopeso	Sobrepeso	Obesidad tipo I	Obesidad tipo II	Obesidad tipo III	Total
Grupo PRC	5	50	27	6	0	88
Grupo No PRC	5	27	30	7	3	72
Total	10	77	57	13	3	160

Tabla 6. Número de pacientes según su IMC que siguen o no el PRC



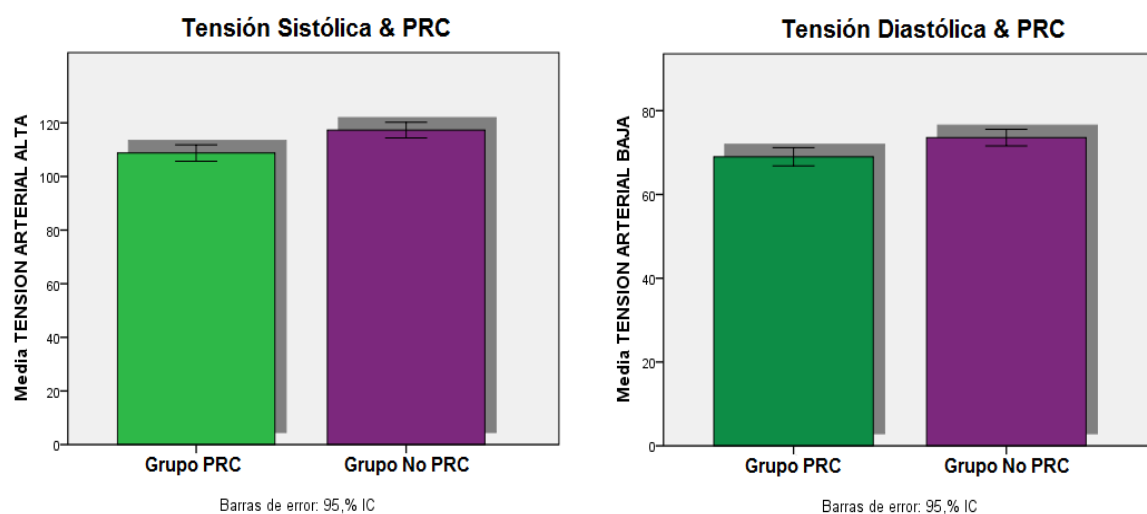
Gráfica 5. Pacientes distribuidos por IMC según sigan o no el PRC

4.3.2. Presión arterial.

PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA. El 96.3% de los pacientes totales tienen una tensión arterial sistólica normal (< 140 mmHg) frente al 3.8% que la tienen alta.

El tratamiento estadístico de estos datos (test de la *t* students) muestra una relación significativa máxima entre los niveles de tensión arterial sistólica y el realizar o no un PRC. (P=0.001). Es decir, que los pacientes que siguen el PRC tienen mejores valores de presión arterial sistólica que los que no participan. (Gráfica 6)

PRESIÓN ARTERIAL DIASTÓLICA. La mayor parte de los pacientes totales estudiados tiene unos valores normales de tensión arterial diastólica (< 90mmHg), el 97.5%, frente a un 2.5% que tiene valores elevados de tensión arterial diastólica. El tratamiento estadístico de estos datos (test de la *t* students) muestra que existe una relación significativa alta (P=0.003) entre realizar el PRC y la presión arterial diastólica. Es decir, que los pacientes que asisten al PRC presentan mejores valores de presión arterial diastólica frente a los pacientes que no asisten al programa. (Gráfica 7)



Gráficas 6 y 7. Medías de presión arterial sistólica y diastólica (mmHg) de los pacientes según sigan o no el PRC

4.4. Resultados de la determinación de parámetros relacionados con el estrés oxidativo.

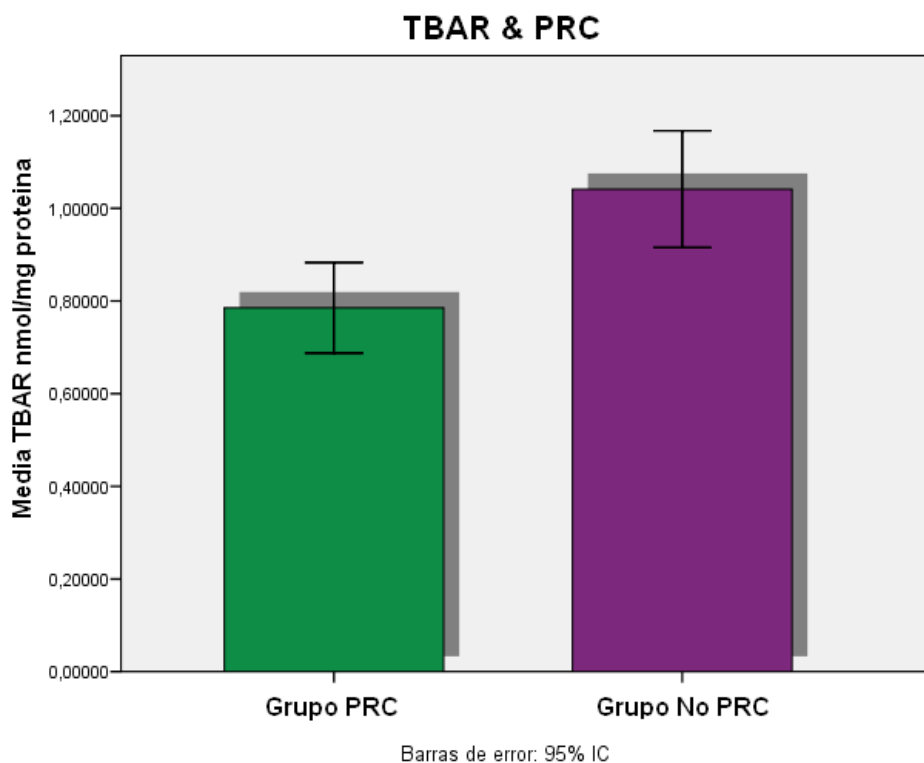
4.4.1. Resultados de la determinación de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARs) en plasma.

En la tabla 7 y gráfica 8 se muestran los resultados de la determinación de TBARs para ambos grupos de pacientes:

	Media	Desviación Típica
Grupo PRC	0.785	0.305
Grupo No PRC	1.041	0.261

Tabla 7. Media de concentración de TBARs (nmol/mg proteína) y desviación típica de los pacientes según sigan o no el PRC

El tratamiento estadístico de estos datos (test de la *t* student) que existe una relación significativa alta ($P=0.003$) entre la peroxidación lipídica y el realizar o no el PRC. Por tanto, los pacientes que realizan el PRC presentan menor concentración de TBAR en plasma que los pacientes que no realizan el PRC.



Gráfica 8. Media de concentración de TBAR (nmol/mg proteína) para cada grupo según realicen o no el PRC

EDAD Y TBARS. Existe una tendencia a una asociación negativa de baja significación ($P=0.049$) entre la edad y el nivel de TBARS determinado en el plasma de todos los pacientes estudiados. Es decir, que en nuestro caso cuanto mayor es la edad menor son los valores encontrados para los TBARS. No hemos encontrado diferencia en las correlaciones realizadas al comparar los dos grupos por separado.

TBARS Y COLESTEROL TOTAL. Existe una correlación positiva de con alta significación (Correlación de Pearson $r=0.352$; $P=0.001$) Entre los niveles de colesterol total y el nivel de TBARS determinados en el plasma de todos los pacientes participantes en el estudio. Si analizamos los resultados, dividiendo a los pacientes

según realicen o no el PRC, comprobamos que no existe correlación entre el colesterol total y los TBARs en la sangre de los sujetos del Grupo PRC mientras que sí que encontramos una correlación positiva de grado medio (Correlación de Pearson $r=0.554$; $P=0.014$) en el Grupo No PRC.

TBARS Y COLESTEROL HDL. Existe una correlación positiva de significación media entre los niveles de colesterol HDL y la concentración de TBARs en el plasma de todos los sujetos estudiados ($r=0.333$; $P=0.01$). Sin embargo esta correlación no se mantiene al comparar por grupos.

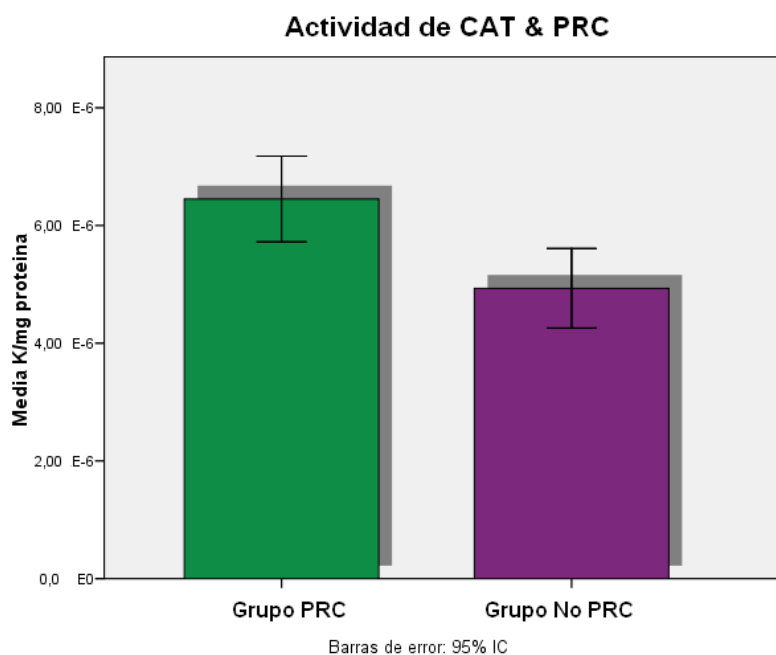
4.4.2. Resultados de la medida de la actividad de la catalasa (CAT).

Existe diferencia entre las medias de la actividad del enzima catalasa encontrada en el Grupo PRC y el Grupo No PRC (Tabla 8 y gráfica 9)

	Media	Desviación Típica
Grupo PRC	6.449 ⁻⁰⁰⁶	2.115 ⁻⁰⁰⁶
Grupo No PRC	4.933 ⁻⁰⁰⁶	1.483 ⁻⁰⁰⁶

Tabla 8. Resultados. Media de la actividad de Catalasa (K/mg proteína) de los pacientes según sigan o no el PRC

El tratamiento estadístico de estos datos (test de la *t* students) muestra una relación significativa alta ($P=0.006$) entre la actividad de catalasa en plasma y la realización o no de un PRC. Vemos que son los pacientes que asisten al PRC los que tienen mayor actividad de catalasa.



Gráfica 9. Media de la actividad de Catalasa (K/mg proteína) de los pacientes según sigan o no el PRC

4.4.3. Resultados de la medida de la actividad de la superóxido dismutasa (SOD).

No encontramos diferencias significativas en la actividad de SOD entre los pacientes que siguen el PRC y los que no lo siguen. Sin embargo sí encontramos correlaciones entre distintos parámetros al diferenciar a estos pacientes en los dos grupos descritos.

SOD Y COLESTEROL LDL. Encontramos una correlación negativa de significación media-baja entre el nivel de colesterol LDL y la actividad de SOD en el plasma de todos los sujetos estudiados. (Correlación de Pearson $r = -0.270$; $P = 0.039$)

Cuando dividimos a los pacientes según realicen o no el PRC, comprobamos que esta correlación no se mantiene en el grupo que realiza el PRC y sin embargo sí que persiste en el grupo que no realiza el PRC (Correlación de Pearson $r = -0.444$; $P = 0.05$).

SOD Y TRIGLICÉRIDOS. El tratamiento estadístico de los datos analizados, muestra que existe una correlación positiva de significación media (Correlación de Pearson $r = 0.322$; $P = 0.014$) entre la actividad del enzima SOD y el nivel de Triglicéridos plasmáticos. Sin embargo no encontramos diferencias entre los grupos.

4.4.4. Resultados de la medida de la actividad de la glutatión peroxidasa (GPx).

No encontramos diferencias significativas entre la actividad de glutatión peroxidasa en sangre entre los pacientes que siguen el PRC y los que no lo siguen. No obstante el tratamiento estadístico de los datos analizados, muestra que existe una correlación negativa con un alto grado de significación (Correlación de Pearson $r = -0.630$; $P = 0.009$) entre la actividad del enzima GPx y los niveles de Colesterol LDL en el grupo de los pacientes que no realizan el PRC. Sin embargo no encontramos esta correlación en el caso de los pacientes que realizan el PRC.

5. Discusión

El estrés oxidativo ha demostrado ser de importancia tanto en la etiología como en el desarrollo de las ECVs ya que, además de tomar parte en el progreso de la placa aterosclerótica (teoría oxidativa de la aterosclerosis), como hemos visto en el capítulo de Antecedentes, el estrés oxidativo interviene en muchos de los factores de riesgo de ECVs.

Es, por tanto, de gran utilidad valorar el grado de estrés oxidativo de los sujetos cardiopatas y comprobar si, el seguimiento de un programa de rehabilitación cardiaca (PRC), es eficaz para controlarlo y, así, mejorar la prevención y evolución de estas patologías. El PRC estudiado en la presente Memoria de Tesis, se basa en el ejercicio físico y en la modificación de los hábitos de vida y la dieta para conseguir sus objetivos.

A pesar de existir numerosos estudios relacionados con las ECVs, son pocos los que valoran el efecto de los PRC sobre el estrés oxidativo, evaluando tanto la reducción de EROS como la mejora de la defensa antioxidante.

5.1. Muestra poblacional estudiada. Encuesta de datos personales y hábitos de vida.

Las ECVs constituyen una de las causas más importantes de discapacidad y muerte prematura en todo el mundo. El problema subyacente es la aterosclerosis, que progresa a lo largo de los años, de modo que cuando aparecen los síntomas, generalmente a mediana edad, suele estar en una fase avanzada. Los episodios coronarios (infarto de miocardio) y cerebrovasculares (ataque apoplético) agudos se producen de forma repentina y conducen a menudo a la muerte antes de que pueda dispensarse la atención médica requerida. La modificación de los factores de riesgo puede reducir los episodios cardiovasculares y la muerte prematura tanto en las personas con ECV establecida como en aquellas con alto riesgo cardiovascular debido a uno o más factores de riesgo (OMS, 2008).

5.1.1. Participación de los pacientes en el PRC.

Lo primero que nos llama la atención es el bajo número de mujeres que participan en el estudio, tan solo 33 pacientes son mujeres (17% de la muestra), y su distribución no es homogénea dentro de los grupos realizados.

Esto puede explicarse por el mayor riesgo cardiovascular de los varones frente a las mujeres (Marta y Campos, 2007). Si bien es verdad que las mujeres tienen mayor mortalidad proporcional, bruta, y número de muertes por ECVs también lo es que la mayor frecuencia de la ECV se presenta en las edades avanzadas de la vida, donde el número de mujeres es muy superior al de varones (Rodríguez Artalejo, 2001) lo cual explica esta controversia.

Por otro lado encontramos que la mayor parte de los pacientes que acuden a un PRC son hombres. Hecho que se corrobora en la bibliografía consultada, donde encontramos estudios con una distribución de sexos muy similar a la nuestra (De Velasco y col., 2002; Plaza y col., 2007).

La baja presencia de mujeres en los PRC puede deberse a varias causas:

- ❖ Las mujeres no están tan concienciadas sobre las ECVs como sobre otras que son consideradas más propias de su género como el cáncer de mama (Anguita y col., 2008). Es necesaria la educación sanitaria a la población general para cambiar esta mentalidad porque, como vimos anteriormente en la revisión bibliográfica, las ECVs son la primera causa de mortalidad en ambos sexos.
- ❖ La edad a la que se padecen las ECVs es normalmente más avanzada en las mujeres, ya que hasta la menopausia, las hormonas femeninas realizan un papel protector CV.
- ❖ Al presentarse las ECVs a mayor edad en las mujeres suele ocurrir que normalmente cohabitan con otras enfermedades. La comorbilidad presentada muchas veces está asociada a patologías que limitan o disminuyen la capacidad de movimiento (enfermedades osteomusculares por ejemplo), lo que hace más difícil el seguimiento de la parte de ejercicio físico por parte de estos pacientes.
- ❖ Los factores psicológicos también influyen en la baja participación de las mujeres en estos programas. La ansiedad y la depresión que normalmente está asociada a este grupo, así como una imagen corporal negativa, podrían frenar a estos pacientes a la hora de tomar la decisión de integrarse en un PRC.
- ❖ No hay que olvidar tampoco los factores sociales y el rol que la mujer juega dentro de la sociedad. Las mujeres suelen ser las encargadas del cuidado de los hijos, los nietos y el hogar, dejando estas tareas poco tiempo para que puedan asistir a los PRC. La opinión que tengan sus familiares (hijos, marido...) influyen fuertemente en que la mujer asista o no al PRC (Lieberman y col.,

1998). Todo esto se ve reforzado en las mujeres de edad más avanzadas, que son precisamente las que más ECVs padecen.

- ❖ Además hay que tener en cuenta que normalmente las mujeres tiene falta de contacto previo con el ejercicio físico y un menor apoyo cultural a mantener un estilo de vida físicamente activo.

Es necesario aumentar la concienciación de las mujeres sobre la importancia de prevenir y mejorar las ECVs. La educación sanitaria es muy importante en este sentido.

5.1.2. Edad.

Observamos que en el grupo que realiza el PRC hay un mayor porcentaje de pacientes mayores de 60 años (62%) que en el grupo que no realiza el PRC (51,4%). Por tanto la muestra no está homogéneamente distribuida en los dos grupos en cuanto a la edad. Encontramos que la edad influye con una alta significación ($P=0,011$) en la realización o no del PRC.

Esto puede deberse a la mayor concienciación de los pacientes sobre su salud CV al aumentar la edad, ya que normalmente han sufrido un mayor número de eventos CV y tienen más dolencias por lo que buscan mejorar su salud o cuidarla. (Baena Díez y col., 2005)

También hay que tener en cuenta la mayor disponibilidad de tiempo libre al aumentar la edad ya que con el cese de la actividad laboral los pacientes disponen de mayor flexibilidad de horario para poder asistir a estos PRC.

Y es precisamente en este rango de edades cuando más importante se vuelve la prevención de ECVs.

Los cambios funcionales y estructurales que ocurren en el corazón y las arterias son claramente atribuibles al proceso de envejecimiento como tal. (Duncan y col., 2005).

Cuanto mayor es la edad más deteriorada se encuentra la actividad cardiovascular, aumenta el grosor de las paredes del corazón, las arterias se endurecen y pierden su flexibilidad y, por tanto, el corazón no puede bombear la sangre tan eficientemente como antes. (Texas Heart Institute, 2012).

Además la edad está asociada a un decline de la actividad física, la cual puede resultar en un empeoramiento de la salud cardiovascular. En este punto la realización de un PRC puede ser beneficiosa ya que incluye la realización de sesiones de ejercicio (de tres a cinco días a la semana) que ayuda a fortalecer el músculo cardíaco y a hacer más flexibles las tónicas y endotelios vasculares.

Con respecto al grupo de más de 61 años, el único estudio encontrado que valora exclusivamente pacientes mayores de 65 años es el de Stahle (Sthale y col., 1999a, Sthale y col., 1999b) que evalúa los efectos sobre calidad de vida, bienestar y capacidad funcional aplicando un programa de ejercicio aeróbico controlado unido a sesiones de relajación y consejo. A los 3 meses encuentra niveles significativos en todos los parámetros psicológicos y físicos medidos, lo que no se mantiene al año. Los autores destacan la necesidad de implantar programas de rehabilitación a largo plazo para mantener los resultados y señalan el efecto beneficioso que pueden tener sobre el aislamiento social y la inmovilidad global de los pacientes ancianos. En un subgrupo del anterior (Sthale y col., 1999) se valora la capacidad funcional siendo significativa, además del peso y el tratamiento farmacológico que no resultan significativos. Se encuentran también valores significativamente beneficiosos en cuanto al control simpático-vagal medido por la variabilidad de la frecuencia cardíaca mediante Holter, lo que tiene importancia en la población de edad, ya que en ésta estos parámetros suelen estar deteriorados.

El ejercicio físico regular, consistente en más de cinco horas semanales, con una buena calidad metodológica, en pacientes de hasta 71 años, produce buenos resultados a nivel funcional y en arterioesclerosis coronaria. Aunque en la mayor parte de los estudios no se valoran específicamente los pacientes mayores (Jerome L. Fleg, 2012; Nieubauer y col., 1997). Por ello los PRC, deben tenerse en especial consideración en estos grupos de edad.

5.1.3. Conocimiento del riesgo CV y medidas adoptadas.

Solo el 8,1% de los pacientes totales dicen no tener conocimiento de cómo los hábitos de vida y la alimentación influyen en su salud CV. A la hora de valorar estos pacientes por grupos no obtenemos una gran diferencia ya que el 90,9% de los pacientes que asisten al PRC dicen tener conocimiento de su riesgo CV frente al 93% de los pacientes que no asisten al programa.

Sin embargo, a la hora de tomar medidas según estos conocimientos para mejorar su salud CV vemos que si existe una diferencia entre los grupos. Aunque el porcentaje de pacientes que dicen tomar medidas en sus hábitos diarios es similar en ambos grupos (96,5% Grupo PRC frente al 94,4% Grupo No PRC) las medidas adoptadas son diferentes (capítulo Resultados, Tabla 1).

En el grupo que realiza el PRC predominan los pacientes que, a la hora de tomar medidas, actúan sobre la alimentación y el ejercicio de forma combinada, mientras que en el grupo que no realiza el PRC hay una distribución diferente, siendo mayores los porcentajes de pacientes que dicen actuar sobre su alimentación o sobre el ejercicio realizado por separado y no de forma combinada.

Un punto importante en el caso de las medidas adoptadas para mejorar la salud CV es la efectividad de las mismas, es decir, que las medidas adoptadas realmente se vean reflejadas al menos en los factores de riesgo.

Nos podemos fijar en el IMC ya que actuar efectivamente sobre la alimentación y el ejercicio se vería reflejado en éste. Nuestros resultados muestran que los pacientes del grupo no PRC tienen mayor IMC, por lo que podemos decir que la efectividad de las medidas tomadas no es la misma para ambos grupos.

Probablemente, la diferencia entre las medidas adoptadas por los pacientes de ambos grupos y la efectividad de las mismas se debe a la información recibida por los pacientes del PRC gracias a la educación sanitaria del programa.

De esta manera los pacientes que siguen el PRC reciben una información correcta sobre cómo intervenir en su ejercicio físico y en su alimentación para que esto tenga como resultado una mejora de su salud CV. Además reciben apoyo psicológico y se lleva un control de la intervención realizada a través de la asociación, por ejemplo con las sesiones de ejercicio realizadas en la misma. Sin embargo los pacientes que no siguen el PRC están menos controlados, reciben menos información de los profesionales sanitarios y más información de divulgación a través de medios de comunicación, lo cual puede llevar a confusión o engaño acerca de las medidas que deben seguir y esto se refleja en una menor efectividad de las mismas ya que no se está llevando a cabo una adecuada prevención secundaria de la ECV.

5.2. Bioquímica.

5.2.1. Glucemia Basal.

La hiperglucemia aumenta el riesgo de padecer un nuevo evento CV debido a que produce oxidación y glucación del colesterol LDL (León-Latre y col., 2009).

La intolerancia a la glucosa o estado prediabético es un estado intermedio entre la normalidad fisiológica y la diabetes manifestada por niveles de glucosa en sangre más elevados a los normales pero no lo suficiente como para diagnosticar diabetes. Diagnosticaremos diabetes cuando los niveles de glucemia basal sean superiores a 126 mg/dl.

En nuestro estudio vemos que hay un número superior de prediabéticos en el grupo PRC (2,6% frente al 20% del no PRC), sin embargo hay un porcentaje bastante menor de diabéticos (28,7% frente a 37,5% de los que no realizan el PRC).

Esta diferencia puede deberse a que, al seguir el PRC, los pacientes prediabéticos no llegan a desarrollar diabetes ya que según la American Diabetes Association (American Heart Association, 2012) distintas investigaciones demuestran que si se toman medidas para controlar el nivel de glucosa en sangre cuando se tiene prediabetes, entre las cuales estarían la alimentación y el ejercicio, es posible retrasar e incluso impedir el desarrollo de diabetes tipo II. Y hay que recordar que la diabetes tipo II aumenta al doble el riesgo de padecer enfermedad coronaria e ictus, así como la mortalidad de dichas ECVs.

Además hemos comprobado como el PRC influye de forma positiva y significativa ($P=0,02$) en la glucemia basal de los pacientes. Por lo que los pacientes que realizan el PRC presentan niveles menores de glucemia basal que los que no lo realizan.

Otros autores también afirman que los PRC disminuyen los niveles de glucosa en sangre (Pinson, 2001; García y col., 2007).

La American Diabetes Association (2013) recomienda tomar medidas principalmente en la dieta y el ejercicio físico para prevenir la diabetes cuando un paciente conoce su estado prediabético, llegando así a retrasar o prevenir la aparición de diabetes tipo II hasta en un 58%. Y son estos precisamente dos aspectos en los que se centra nuestro

PRC. Se recomienda disminuir el peso de un 5 a un 10% mediante una dieta sana y actividad física moderada.

La actividad física que se recomienda a los pacientes, moderada, aeróbica, regular y adaptada a sus necesidades se adecúa también a la aconsejable para prevenir la diabetes.

Son varias las medidas que podemos adoptar en cuanto a la alimentación para prevenir el desarrollo de diabetes, algunas tan conocidas como evitar comidas y bebidas con alto contenido en azúcares y aumentar el consumo en fibra (Lichtenstein y col., 2006). Sin embargo es importante que esta información nutricional llegue a los pacientes de forma adecuada, a través de profesionales sanitarios, para que las medidas tomadas en sus hábitos de vida sean efectivas.

5.2.2. Triglicéridos (TG).

La hipertrigliceridemia, el aumento de los TG sanguíneos, es un factor de riesgo de ECVs especialmente cuando se ve acompañada de valores elevados de colesterol, teniendo especial importancia en la cardiopatía isquémica (León-Latre y col., 2009). Por otra parte, parece que el aumento de los TG en sangre está asociado con una disminución de los niveles de HDL (Ginsberg y col., 2007).

En nuestro estudio encontramos una gran diferencia en el nivel de TG entre los pacientes que siguen o no el PRC (capítulo Resultados, Tabla 3), de forma que existe un descenso estadísticamente significativo en el nivel de TG entre los pacientes que realizan el PRC con respecto a los pacientes que no lo realizan.

Distintos estudios epidemiológicos demuestran que el nivel de TG se ve afectado por el peso y la distribución de la grasa corporal (Miller y col., 2011). Además el Framingham Heart Study nos muestra una fuerte asociación entre el tejido adiposo subcutáneo abdominal y la grasa abdominal con el nivel de TG sanguíneos (Fox y col., 2007).

El ejercicio puede disminuir los niveles de TG ya que facilita la hidrólisis y utilización de los mismos en el músculo esquelético. El efecto producido varía dependiendo de la intensidad, duración y consumo calórico del ejercicio así como del nivel previo de TG en sangre. Así, un nivel de TG óptimos en sangre (≈ 100 mg/dl) se asocian con reducciones mínimas ($\approx 5\%$) en los niveles de TG tras el ejercicio, sin embargo con

niveles más elevados de TG (>150 mg/dl) se pueden observar disminuciones mayores (15-20%) (Couillard y col., 2001). Otros estudios sostienen que para que el ejercicio consiga estas disminuciones de TG es necesario que lleve consigo una pérdida de peso, ya que al evaluar la reducción del nivel de TG con ejercicios de distinta intensidad y duración sin pérdida de peso no encontraban diferencias (Duncan y col., 2005).

La mejora del perfil lipídico gracias a una dieta cardiosaludable ha sido comprobada en pacientes con enfermedad vascular de Fontaine grado II (Nestares y col., 2003). Los carbohidratos aumentan los TG plasmáticos de la misma manera que los hacen las grasas saturadas. En un principio se recomendaba sustituir la ingesta de grasas saturadas por la misma ingesta calórica de carbohidratos, pero al descubrir que estos también elevaban los niveles de TG y además disminuían los niveles de HDL se recomendó sustituirlos por otro tipo de grasas, las insaturadas, especialmente por los ácidos grasos monoinsaturados (oléico, linoléico) que no solo aumentan el HDL si no que no elevan los TG (Mataix y col., 2009; Aguilera y col., 2004).

Los ácidos grasos n-3, contenidos por ejemplo en el pescado, mejoran los niveles plasmáticos de triglicéridos (Ottestad y col., 2012).

Son estos y otros aspectos sobre el ejercicio y la dieta en los que se hace especial énfasis a la hora de hacerlos llegar a los pacientes que siguen el PRC pudiéndose explicar así que encontremos menores valores de TG en los mismos ya que gracias a la información recibida podrán adoptar medidas más eficaces a la hora de mejorar su dieta y estilo de vida para cuidar su salud CV.

Estos resultados concuerdan con los de otros en los que también se observa una disminución de niveles de TG plasmáticos en pacientes que siguen un PRC (Onishi y col., 2010).

5.2.3. Colesterol total.

Los niveles elevados de colesterol constituyen uno de los más importantes factores de riesgo CV, principalmente de IAM e ictus. Además el colesterol alto asociado a otros factores de riesgo, como la hipertensión arterial o la diabetes, aumenta en gran medida el riesgo CV (American Heart Association, 2012).

Como comentamos en el capítulo de revisión bibliográfica, el colesterol es uno de los principales factores de riesgo debido a la relación existente entre éste y la aparición de complicaciones isquémicas de la aterosclerosis. Lobos y col. (2008) resaltan la relación directa entre los niveles de colesterol total y el riesgo de ECVs, ya que niveles elevados de colesterol suponen un mayor riesgo de ECVs.

Distintos estudios epidemiológicos, como el de Framingham, muestran la importancia del colesterol total como factor de riesgo CV y como la disminución de la colesterolemia conlleva la reducción del riesgo CV (Álvarez Sala y Millán, 2000).

Nuestros resultados sobre colesterol total muestran que un 95,3% de la muestra tiene niveles de colesterol dentro de la normalidad. Podemos deducir de aquí que el colesterol es un parámetro que suele estar controlado, si no por el PRC sí por la medicación y los análisis periódicos realizados a los pacientes que padecen ECVs.

En nuestro estudio, encontramos una relación estadísticamente significativa entre la concentración plasmática de colesterol total y la realización o no del PRC ($P=0,004$). Es decir, que a pesar de que los niveles de colesterol total están bien regulados, los pacientes que siguen el PRC presentan niveles menores de colesterol total.

La dieta es uno de los puntos clave sobre los que actuar a la hora de prevenir y mejorar los niveles de colesterol. Si bien es verdad que la medicación y los constantes análisis realizados a estos pacientes hacen que el colesterol se mantenga dentro de los límites, la capacidad de mantener unos niveles más saludables mediante una modificación en la dieta es muy importante. Cuando los pacientes reciben la información de poseer altos niveles de colesterol se centran principalmente en la disminución de la ingesta de alimentos con alto contenido en el mismo. Pero la intervención correcta que hay que realizar sobre la dieta para conseguir una disminución de los niveles plasmáticos de colesterol es más compleja. Es por ello que se hace necesaria de nuevo la educación sanitaria que aclarará a los pacientes las medidas a tomar y desmitificará los tópicos difundidos por los medios de comunicación. Una de las medidas más importantes es reducir el aporte de grasas en la dieta hasta, al menos, un 25-35% según la recomendación para el control de la hipercolesterolemia.

Los ácidos grasos saturados producen una acumulación de partículas LDL en plasma tanto por aumentar su síntesis así como por la inhibición de los receptores de las

mismas (Clarke y col., 1997), por ello la ingesta de ácidos grasos saturados no debe ser superior al 7%.

También es importante un aumento del consumo de fibra en la dieta ya que absorbe sales biliares y colesterol a nivel intestinal reduciendo así la cantidad de colesterol consumido que pasaría a plasma (Hankey, 2012).

Además, como decíamos en la revisión bibliográfica las dietas ricas en hidratos de carbono y bajas en lípidos pueden desestabilizar el perfil lipídico ya que disminuyen el LDL pero al mismo tiempo disminuye el HDL y aumentan los niveles postprandiales de TG, lo cual se traduce en un mayor riesgo cardiovascular. Esto es importante ya que muchos de los pacientes, a la hora de las encuestas, afirman modificar la dieta de forma que comen menos grasas o incluso afirman que intentan “no comer alimentos que tengan grasa”, si estos alimentos que dicen evitar son sustituidos por alimentos ricos en hidratos de carbono podríamos estar en la situación antes descrita. Por ello es importante proporcionar la información de la cantidad y tipo de grasas saludables.

Gracias al ejercicio y a la mejora en los hábitos de vida y dietéticos de los pacientes que realizan el PRC se produce una mejora en el perfil lipídico, permitiendo así actuar sobre uno de los principales factores de riesgo, el colesterol total sanguíneo.

5.3. Resultados clínicos relacionados con la antropometría y otras medidas.

5.3.1 IMC.

Encontramos que la mayor parte de la muestra presenta sobrepeso (48,1%) u obesidad de grado I (35,6%). Tan solo un 6.3% de la muestra está dentro de un peso normal e incluso encontramos un 3% con obesidad mórbida.

Esta distribución de IMC podemos considerarla estereotípica de un conjunto de pacientes que presentan ECVs, y hay que recordar que el sobrepeso y la obesidad aumentan las probabilidades de adquirir otros factores de riesgo cardiovascular como hipertensión, niveles elevados de colesterol en sangre y diabetes (Instituto Nacional de los Pulmones, el Corazón y la Sangre de los Estados Unidos (NHLBI) 2012)

Existe un incremento continuo y gradual del riesgo relativo de mortalidad conforme aumenta el IMC (Informe del SEA, 2007) considerándose un factor de riesgo cardiovascular cuando el IMC es igual o superior a 30 Kg/m².

En nuestro estudio observamos una clara tendencia de disminución del IMC dentro del grupo PRC. Podemos observar que se invierte la distribución de los pacientes entre los grupos al aumentar el IMC. Vemos que la realización de nuestro PRC influye de forma significativa (P=0,043) en el IMC presentado por los pacientes.

Los PRC tienen como uno de los objetivos mejorar el IMC, el peso y la circunferencia de la cintura (Smith y col., 2006; Balady y col., 2007).

Como se ha señalado anteriormente, parte del PRC está basado en la realización de ejercicio físico, que incluye sesiones de tres a cinco días a la semana (dependiendo del nivel de condición física de cada paciente) y una parte informativa y formativa sobre hábitos cardiosaludables (en estas sesiones se les informa de cómo llevar una dieta acorde a sus necesidades), por tanto, esto explica que los pacientes que realizan el PRC pierdan peso debido a la realización del mismo y tengan menor IMC

Los resultados de nuestro estudio son apoyados por los obtenidos en otros trabajos en los que se determinan los beneficios de la rehabilitación, basada en dieta y ejercicio, en pacientes con ECVs. Esta mejora en el IMC es más estable cuanto mejor es la adherencia del paciente a los nuevos patrones de dieta, ejercicio y estilo de vida (González y col., 2003; Onishi y col., 2010; Pérez y col., 2010; Caliani y col., 2013; Vázquez-Arce y col., 2013)

5.3.2. Presión arterial.

La hipertensión arterial es uno de los principales factores de riesgo cardiovascular ya que además de aumentar el riesgo relativo de padecer una ECV, aumenta también el riesgo de reinfarcto y de mortalidad en pacientes que han sufrido un IAM (Velasco y col., 2000; Mata y Campos, 2007).

Nuestros resultados muestran como la mayor parte de los participantes en este estudio tienen valores de presión arterial dentro de la normalidad, tanto sistólica (96,3%) como diastólica (97,5%). Por lo tanto podemos decir que la tensión arterial es un parámetro que, al igual que pasaba con el colesterol total, está regulado en ambos grupos si no

por el PRC sí por las revisiones periódicas de estos parámetros y la medicación que suelen tomar los pacientes con ECVs.

Sin embargo, encontramos una relación significativa máxima en el caso de la presión arterial sistólica ($P=0,001$) y media en el caso de la diastólica ($P=0,003$) con el seguimiento del PRC. Es decir, que los pacientes que siguen el PRC presentan mejores valores de tensión arterial que los que no siguen el programa. Son varios los factores que influyen en los niveles de presión arterial, entre otros podemos encontrar el IMC, la edad, el ejercicio físico que se realiza y los hábitos de vida, así como la dieta.

El aspecto dietético más conocido que afecta a la tensión arterial es el consumo de sal, debido a la cantidad de sodio que contiene. Este factor está avalado por múltiples estudios, ambientales, epidemiológicos y de intervención (Stamler, 1997; Appel y col., 1997; He y MacGregor, 2001; He y MacGregor, 2009; Hankey, 2012).

Pero existen otros elementos menos conocidos sobre los que también podemos actuar a la hora de prevenir o mejorar la presión arterial, como por ejemplo el potasio y el calcio. Una dieta rica en potasio favorece la excreción de sodio y niveles bajos de calcio, menos de 600 mg/día, se asocian con aumentos en la presión arterial (Dotres y col., 1998), esto puede deberse al efecto natriurético del calcio.

Un correcto aporte de vitaminas y fibra mediante una dieta rica en frutas y verduras produce también efectos beneficiosos sobre la presión arterial (Appel y col., 1997).

Reducir la ingesta de grasa saturada y de colesterol y aumentar la de grasa poliinsaturada dentro de las recomendaciones dietéticas, mejora la presión arterial debido, entre otras razones, a que las grasas poliinsaturadas son precursoras de prostaglandinas, cuyas acciones afectan a la excreción renal de sodio y relajan la musculatura vascular (Genellys, 2008).

Además las mejoras dietéticas traen consigo una disminución de peso, la cual también interviene en la mejora de la presión arterial ya que según distintos estudios por cada kilo de peso que se consiga reducir la presión arterial disminuye de 1,6 a 1,3 mm Hg en un gran número de pacientes (Gonzalez, 1997; Stripping, 1997).

Otro componente de especial interés a la hora de realizar recomendaciones para la adaptación de hábitos de vida cardiosaludables es evitar el consumo de bebidas

excitantes, sobre todo las que contienen cafeína ya que esta aumenta la resistencia vascular y disminuye la dilatación del endotelio (Larssonand y Orsini, 2011). Como ya hemos mencionado, los pacientes que siguen el PRC practican ejercicio físico de forma regular, tienen menor IMC y saben tomar medidas más eficientes en cuanto a su alimentación y sus hábitos de vida gracias a la educación sanitaria recibida con respecto a los pacientes que no siguen el PRC. Todos estos factores repercuten en la influencia del PRC sobre los niveles de presión arterial encontrados.

Nuestros resultados concuerdan con los de otros autores que estudian los efectos de la rehabilitación cardiaca, con medicación, dieta y/o ejercicio físico sobre la tensión arterial. El ejercicio físico como factor terapéutico consigue una reducción de la tensión arterial entre 5 y 21 mmHg. Si además el programa de rehabilitación cardiaca incluye dieta y hábitos saludables de vida se consigue que la incidencia de hipertensión en los pacientes se reduzca a la mitad. (Fagard 2001; Garcia Delgado y col., 2008)

La bibliografía consultada sobre hipertensión leve y moderada, que es principalmente la que presentan nuestros pacientes, muestra que los efectos conseguidos con el PRC se asemejan al que se consigue con la medicación habitual. La diferencia radica en que los PRC se acompañan de una mejoría no solo de este parámetro, sino de otros factores de riesgo, mientras que la medicación solo mejora la hipertensión, llegando incluso a empeorar otros factores de riesgo. (Rojas y col., 2000; García Delgado y col. 2008).

5.4. Estrés Oxidativo.

5.4.1. Peroxidación lipídica (TBARs).

Existe una gran diferencia entre el nivel de peroxidación lipídica que presentan los pacientes que participan en el PRC y los pacientes que no participan, teniendo estos últimos una peroxidación lipídica mucho mayor. Como veíamos en el apartado de resultados existe una relación significativa alta ($P=0,003$) entre la peroxidación lipídica y el realizar o no el PRC. Por tanto, los pacientes que realizan el PRC presentan menor concentración de TBAR en plasma que los pacientes que no realizan el PRC. No hemos encontrado estudios en la literatura científica acerca de cómo un PRC afecta a la peroxidación lipídica. Sin embargo, podemos contrastar nuestros resultados con otros estudios que valoran por separado algunos aspectos incluidos en nuestro PRC.

Nuestro PRC incluye consejos nutricionales con la finalidad de conseguir que nuestros pacientes adopten unos hábitos alimenticios cardiovascularmente saludables. Uno de los efectos que esto conlleva, como hemos visto anteriormente, es la pérdida de peso por parte del paciente y la mejora en su IMC. Varios estudios demuestran que los individuos con obesidad poseen mayor estrés oxidativo, es decir, mayor producción de ERO y menor actividad enzimática antioxidante (Ceriello y col., 1998; Mohanty y col., 2000).

Paresh Dandona y colaboradores en 2001, encuentran que la peroxidación lipídica, así como el daño producido a proteínas y aminoácidos debido a este proceso, es mayor en sujetos obesos que en sujetos con un IMC normal. Además, también demuestran que la restricción de la ingesta calórica y la pérdida de peso disminuyen significativamente la peroxidación lipídica. Este experimento muestra claramente como una restricción calórica basada en la adaptación de una dieta de 1,000 Kcal/día produce un descenso rápido de la producción de ERO. Los efectos son visibles en la primera semana y persisten más allá de las 4 semanas, tiempo límite del experimento (Dandona y col., 2001).

Veíamos también anteriormente que los pacientes que siguen el PRC presentan unos niveles de TG menores que los pacientes que no realizan el programa. Varios estudios han demostrado que la hipertrigliceridemia aumenta el metabolismo oxidativo, la producción de aniones superóxido y la concentración de peróxidos lipídicos. (Szczeplik y col., 1985; Efe H y col., 1999). Además, un aumento de las concentraciones plasmáticas de TG tras una comida rica en grasas causa un aumento de la concentración plasmática de TBARs (Tinahones y col., 2009).

Otro parámetro que se ve modificado gracias al PRC es la glucemia basal. Los pacientes que siguen el PRC presentan mejores valores de glucemia basal. La diabetes melitus está asociada a un aumento de la génesis de EROs y del daño que estas producen. La hiperglucemia, tanto aguda como crónica produce también un aumento en la génesis de radicales libres. La glucosa ingerida en la dieta estimula la actividad metabólica celular y mitocondrial lo cual es responsable de este aumento en la producción de EROS (Mohanty y col., 2000). Tinahones y col. (2009), muestran una gran asociación entre la obesidad, la diabetes y el estrés oxidativo, encontrando diferencias antes y después de la ingesta de alimentos ricos en grasas. En el periodo postprandial encontraban un gran aumento del estrés oxidativo, especialmente de la

peroxidación lipídica. Este aumento en el estrés oxidativo postprandial era además mayor en el caso de personas obesas con resistencia a la insulina (Tinahones y col., 2009).

Gracias a nuestro PRC los pacientes adoptan unos mejores hábitos alimenticios. Esto incluye, entre otros hábitos, una disminución de la ingesta de alimentos ricos en grasa. (Sánchez Entrena, 2011). Debido a esto los pacientes que siguen el PRC presentan un mejor IMC, un mejor perfil graso en la dieta y mejores niveles de glucemia. Es presumible que además los niveles postprandiales de estrés oxidativo sean más bajos. Todo esto puede explicar que los niveles de peroxidación lipídica encontrados en los pacientes que siguen el programa sean menores que los hallados en los pacientes que no lo siguen.

Por otra parte el ejercicio físico realizado apropiadamente reduce la producción de EROS y mejora el sistema antioxidante, aumentando así la resistencia de órganos y tejidos contra el daño producido por los radicales libres (Polidori y col., 2000). Además el ejercicio físico produce también una mejora del perfil lipídico y del IMC (De Teresa y col., 2002).

Mayor Gonzalez y col., (2012) llevaron a cabo un estudio sobre pacientes diabéticos y sanos a los que sometían a ejercicio aeróbico al 60% del VO_2 max. (consumo de oxígeno). Ninguno de estos pacientes realizaba ejercicio habitualmente. Encontraron que tras el ejercicio se producía un aumento de la concentración de TBARS que era más importante en los pacientes diabéticos. Sin embargo encuentran una fuerte correlación negativa entre los niveles de TBARS y el VO_2 max.), planteándose así la pregunta de si un entrenamiento regular con ejercicio físico aerobio podría producir a medio-largo plazo una disminución de la concentración de TBARS. En nuestro estudio, los pacientes que siguen el PRC presentan precisamente ese perfil, el entrenamiento físico es regular y adaptado a sus necesidades (Sánchez Entrena, 2011), encontrándose menores niveles de peroxidación lipídica en estos pacientes que en los que no siguen el PRC.

Nuestro estudio concuerda con otros resultados que apoyan el efecto positivo que tiene el ejercicio físico regular sobre la peroxidación lipídica. El ejercicio físico regular produce una mejora en la actividad de enzimas antioxidantes. Por ejemplo sobre la actividad de GPx, que no solo detoxifica H_2O_2 , sino que también es capaz de

transformar los lípidos hidroperóxidos en alcoholes no tóxicos disminuyendo así la peroxidación lipídica (Céspedes y Sánchez, 2000).

Es por ello que siguiendo un PRC conseguiremos por una parte disminuir el sustrato de la peroxidación lipídica, los lípidos, y por otra parte reduciremos la concentración de radicales libres que desencadenan o se ven envueltos en este proceso. De esta forma se puede justificar la gran diferencia encontrada en la peroxidación lipídica de pacientes que siguen el PRC y que no lo siguen.

Los resultados obtenidos muestran una correlación negativa ($P < 0.05$) entre la edad y la concentración de TBARs. Esta correlación no se mantiene al realizarla separando los pacientes en los dos grupos.

Está bien estudiado que al aumentar la edad aumenta también el estrés oxidativo, por lo que nuestros resultados parecen no concordar con el resto. Sin embargo hay que tener en cuenta que hay más pacientes mayores de 60 años en el grupo de rehabilitación.

Puede que el tamaño de la muestra no sea suficiente como para poder hallar una correlación entre TBARs y edad dentro de los distintos grupos. Sin embargo los pacientes de mayor edad se encuentran principalmente dentro del grupo PRC y presentar niveles significativamente menores de TBAR gracias al PRC. Por lo tanto la correlación realizada a nivel general sería negativa, ya que estaríamos comparándolos con los sujetos de menor edad, que se concentran principalmente en el grupo no PRC y que presentan mayores niveles de TBARs al no realizar el PRC.

Encontramos una correlación positiva ($P < 0,01$) entre los niveles de colesterol total y el nivel de TBARs. Es decir, a mayor nivel de colesterol total mayor es la concentración de TBAR hallados en plasma, resultado esperado ya que cuanto mayor sea el sustrato susceptible de sufrir peroxidación lipídica mayor es la concentración de TBARs. Varios estudios en animales demuestran que la ingesta de una dieta elevada en colesterol produce un aumento en la peroxidación lipídica, así como una dieta rica en antioxidantes y baja en colesterol produce una mejora de la misma (Mahfouz y col., 2000; Sabitha y col., 2010). En humanos, niveles bajos de HDL y altos de LDL están relacionados con el aumento de la peroxidación lipídica (Natale y col., 2013)

Aunque no existe una relación lineal entre el colesterol plasmático y el colesterol que se ingiere en la dieta está demostrado que una dieta con un perfil lipídico inadecuado, por ejemplo un exceso de ácidos grasos saturados y ácidos grasos trans, eleva el número de partículas VLDL y LDL séricas totales (Clarke y col., 1997). Sin embargo, una dieta con un perfil lipídico correcto, en la que se incluyan por ejemplo ácidos grasos poliinsaturados omega-6 y monoinsaturados cis, es capaz de disminuir el colesterol LDL. Otros como los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 disminuyen niveles de VLDL en plasma debido a la inhibición de la producción de ácidos grasos y triglicéridos (Ascherio y col., 1999). Un correcto consumo de fibra e hidratos de carbono en la dieta puede conseguir también una disminución del colesterol (Hankey, 2012). Si tenemos en cuenta todas estas consideraciones dietéticas podríamos conseguir una disminución del colesterol plasmático y, por tanto, de parte del sustrato de la peroxidación lipídica.

Además nuestro PRC cuenta también con ejercicio físico, el cual mejora el perfil lipídico reduciendo la hipercolesterolemia total y produce una mejora en el sistema antioxidante (De Teresa y col. 2002). Por otra parte en nuestro estudio encontramos que existe una diferencia entre grupos con respecto a la relación existente entre el colesterol y la peroxidación lipídica. Al dividir a los pacientes según realicen o no el PRC podemos observar que no existe correlación entre el colesterol total y los TBARs en la sangre de los sujetos del Grupo PRC mientras que sí que encontramos una correlación positiva significativa media ($P=0,014$) en el Grupo No PRC, hallazgo importante, ya que evidencia que no sólo no aumenta la peroxidación lipídica por disminuir el sustrato, colesterol, sino que el PRC consigue disminuir los radicales libres de tal forma que se consigue esta correlación. El descenso de la peroxidación lipídica gracias al PRC tiene implicaciones positivas con respecto a la salud CV de nuestros pacientes.

Gracias a nuestro PRC los pacientes que siguen el programa presentan un mejor perfil lipídico que los pacientes que no realizan el programa (mejores niveles de triglicéridos y colesterol en sangre), por lo que el sustrato para la peroxidación de lípidos es menor. Además observamos una mejora en el estrés oxidativo por lo que habrá una menor concentración de ERO que puedan oxidar al sustrato. La susceptibilidad que presentan las partículas LDL para oxidarse es un punto importante a la hora del desarrollo de la placa aterosclerótica (Rocha y col., 2009). Elosua y colaboradores realizan un estudio

en el que 7 hombres y 10 mujeres con ECVS, dislipemia, diabetes o enfermedad respiratoria, son sometidos a un programa de entrenamiento con ejercicio aeróbico durante 16 semanas. Tras este periodo los pacientes presentan unas partículas LDL con mayor resistencia a la oxidación y un nivel menor de partículas LDL oxidadas. Por lo que, como podemos observar, la realización de ejercicio físico regular aumenta la resistencia a la oxidación de las partículas LDL.

Como veíamos en la discusión distintos factores de riesgo cardiovascular se pueden traducir en un aumento del daño molecular y por ende de la oxidación lipídica. Los aldehídos generados por la peroxidación lipídica son muy estables y reactivos, produciendo por ello daño a los tejidos. Por ejemplo, el MDA produce daños proteicos uniéndose covalentemente a distintas proteínas. Estas proteínas modificadas pueden acumularse y producir daños celulares. Además la unión de MDA y proteínas genera productos de terminación de lipoperoxidación los cuales pueden generar daño por sí mismos (Bennaars-Eiden y col., 2002). Otros compuestos generados se ven implicados en el desajuste del balance redox en las ECVs produciendo el deterioro de las células vasculares. E incluso algunos pueden inducir además la formación de nuevas EROs (Brand y col., 2004). Por todo esto la disminución significativa de los niveles de peroxidación lipídica que conseguimos en nuestro estudio debe ser tomada en consideración debido a los grandes beneficios cardiovasculares que trae consigo.

5.4.2. Actividad enzimática de catalasa.

Existe una relación significativa alta ($P=0,006$) entre la realización de un PRC y la actividad de esta enzima antioxidante, de manera que los pacientes que realizan el PRC presentan una actividad enzimática de Catalasa significativamente mayor que los pacientes que no realizan el programa.

Tenemos que recordar que la Catalasa es una enzima antioxidante cuya actividad es muy importante en pacientes con ECVs ya que, entre otras cosas, protege el endotelio de la aorta frente a la apoptosis causada por las LDL oxidadas (Lin y col., 2004).

En pacientes hipertensos se encuentra una elevación de la concentración plasmática de peróxido de hidrógeno, el principal substrato de la catalasa, lo que conllevaría a un mayor daño oxidativo en la pared vascular con todas las consecuencias que esto produce en el desarrollo de las ECVs (Lacy y col., 2000). Si este aumento de la

concentración de peróxido de hidrógeno se ve acompañado de la disminución de actividad de CAT podríamos deducir que los daños serán mayores.

En pacientes con ECVs y principalmente en pacientes hipertensos se encuentra una actividad de CAT menor que en pacientes sanos siendo esta disminución de la actividad de CAT proporcional a la gravedad de la enfermedad (Amirkhizi y col., 2010).

Personas con un IMC elevado presentan menor actividad de la CAT y mayor concentración de EROs (Furukawa y col., 2004). En nuestro estudio los pacientes que realizan el PRC presentan mejor IMC que los pacientes que no lo realizan, por lo que esto podría influir en la mejor actividad de la CAT encontrada en el primer grupo.

Hay estudios en animales que comprueban como la actividad de la CAT se ve disminuida tras la ingesta de una comida con alto contenido en grasa, principalmente debido a que el metabolismo de ácidos grasos aumenta la producción mitocondrial de H_2O_2 por lo que la CAT se ve comprometida a eliminar este exceso de H_2O_2 producido por el metabolismo lipídico (Rindler y col., 2012).

Los pacientes que realizan el PRC presentan un mejor IMC y gracias al PRC adaptan unos mejores hábitos dietéticos (Sánchez Entrena, 2011) por lo que la actividad de CAT se ve también beneficiada en este aspecto.

Tinahones y col. (2009), estudiaron dos grupos de pacientes obesos con y sin insulinoresistencia, observando que la capacidad de CAT en plasma es similar entre las personas con IMC similar pero, tras la ingesta de una comida con alto contenido en grasa, solo las personas con insulinoresistencia presentan una disminución de la actividad de la CAT. Además los pacientes obesos sin insulinoresistencia no solo no presentaban una disminución de la actividad de CAT tras la ingesta, sino que presentaban una mejora de esta actividad, teniendo esto un rol protector. Cuanto mayor es la resistencia a la insulina peor era la actividad de CAT encontrada tras la ingesta de una comida elevada en grasas (Tinahones y col., 2009).

Existen estudios que determinan que las personas con diabetes poseen una actividad de CAT menor que las personas sanas (Ceriello y col., 2001; Estévez y González, 2012). Se ha demostrado que un aumento en la concentración de glucosa, así como un aumento en los iones superóxido, debido a un mayor estrés oxidativo, produce la

inactivación de la CAT (Di Simplicio y col., 1995; Ozyilmaz, 2007). Esto podría explicar también la disminución de la actividad de CAT encontrada en el grupo no PRC.

El PRC seguido por los pacientes de nuestro estudio, consigue una diferencia significativa en los niveles de glucosa basal de los pacientes. Esto influye en la resistencia a la insulina y el estado diabético por lo que podría ser una de las razones por las cuales los pacientes que siguen el PRC tienen mayor actividad de CAT. Estos pacientes podrían presentar por tanto una mejor defensa antioxidante en el estado postprandial.

Un aumento de los ácidos grasos circulantes produce un aumento de la actividad de mitocondrias y peroxisomas que producen una mayor oxidación de ácidos grasos. Esto promueve la producción de peróxido de hidrógeno, peroxisomal y mitocondrial, comprometiendo así la actividad de la CAT. Como veíamos anteriormente los pacientes que participan en el PRC presentan un nivel de triglicéridos significativamente menor que aquellos que no participan (Tabla 3. Resultados. Porcentaje de pacientes según los niveles de TG), lo cual podría contribuir también a la mayor actividad de la CAT encontrada en el grupo de pacientes que realiza el programa.

Podemos centrarnos también en los efectos positivos que el ejercicio físico puede producir en el estrés oxidativo en cuanto a la actividad de la CAT, siendo este ejercicio físico un entrenamiento regular adaptado a las necesidades de los pacientes.

Siguiendo estas pautas hemos encontrado estudios que valoran el estrés oxidativo en personas con ECVs que siguen un programa de entrenamiento. Así, Chiriac y col. (2004), realizan un estudio en pacientes con hipertensión moderada (149-150/90-99 mmHg) los cuales realizan un programa de ejercicio físico durante tres meses, comparando este grupo con un grupo de pacientes sanos. Encuentran un incremento del estrés oxidativo en los sujetos con hipertensión, encontrando menor actividad de la CAT en estos sujetos al compararlos con los sanos. Tras tres meses de ejercicio físico el estrés oxidativo de estos pacientes mejoraba, aumentando la actividad del enzima.

Axel y col. (2013), han estudiado a 23 pacientes con insuficiencia cardiaca crónica. Dividen a estos pacientes según realizan o no un programa de ejercicio físico aeróbico, realizan un seguimiento durante 6 meses y contrastan los resultados con un grupo

control de pacientes sanos. Midieron, entre otros parámetros, la actividad de la CAT al inicio y al final de estos 6 meses y encontraron un aumento del 41% en su actividad. En estos estudios podemos observar una mejora de la actividad de este enzima tras el seguimiento de un programa de ejercicio físico lo cual coincide con los resultados obtenidos en el presente estudio.

5.4.3. Actividad enzimática de SOD.

La actividad SOD es un marcador eficiente y un buen corrector a la hora de definir el riesgo y la progresión de varias ECVs como la hipertensión, insuficiencia cardiaca, diabetes y aterosclerosis.(Maksimenko y Vavaev, 2012). Se encuentra una actividad SOD baja en pacientes con angina y pacientes que han sufrido un IAM (Sunshil y col., 1995). Existen estudios que encuentran menor actividad de la SOD en pacientes con hipertensión. (Kedzidora y col., 2004). Por lo que podría ser interesante el uso del nivel de actividad de esta enzima como marcador para valorar el daño isquémico (Vukelic, 1997).

Como veíamos en el capítulo de Antecedentes, la SOD tiene un rol importante en la protección del músculo cardiaco, especialmente en la isquemia, momento en el que se produce una elevación de las ERO en sangre. Por ejemplo impide que el ON reaccione con el ion superóxido para formar peroxinitrito, mejorando así la presión vascular, hecho de gran importancia en pacientes hipertensos (Sunshil y col., 1995).

En nuestro estudio, hemos encontrado una correlación negativa entre el nivel de colesterol total y la actividad de SOD ($r = -0,270$; $P = 0.039$) en el conjunto completo de sujetos estudiados. Esto significa que, de forma general, la actividad de SOD disminuye al aumentar los niveles de colesterol.

Diversos estudios en animales muestran que una dieta rica en colesterol produce una disminución significativa de la actividad SOD, así como las dietas con un perfil lipídico poco saludable (Diniz y col., 2004; Sabitha y col., 2010), probablemente debido al agotamiento de la actividad enzimática en la eliminación de radicales libres producidos bajo estas condiciones. Además, los tratamientos con estatinas muestran una disminución fuerte de los niveles de colesterol y al mismo tiempo un aumento significativo de la actividad SOD (Malgalhaes y col., 2006).

Durante los procesos de oxidación de las partículas LDL se forman oxisteroles, como el 7 β -hidroxicolesterol (7 β -OH) y 7-cetocolesterol (7-ceto). Estos metabolitos son componentes tóxicos encontrados posteriormente en las mismas partículas LDL. (Dzeletovic S. y col., 1995). Los oxisteroles pueden producir muerte celular mediada por necrosis y apoptosis estrechamente relacionadas con incrementos en la producción de EROs (Larsson y col., 2006). Además las partículas de LDL oxidadas inhiben los genes de la SOD en las células de músculo liso de la aorta humana (Lin y col., 2007) disminuyendo así la defensa antioxidante en esa zona.

Tras observar esta correlación general entre el colesterol y la actividad SOD, dividimos a los pacientes en los dos grupos de estudio, según realicen o no el PRC, y comprobamos que esta correlación no se mantiene en el grupo que realiza el PRC y sin embargo sí que persiste en el grupo que no realiza el PRC ($r = -0,444$; $P = 0,05$). Podemos afirmar por tanto que la actividad SOD disminuye al aumentar los niveles de colesterol en sujetos que no realizan el PRC. Sin embargo, en el grupo que realiza el PRC esta tendencia no llega a ser tan acusada como para resultar en una correlación significativa.

Una dieta hipercalórica y rica en grasa produce un aumento del colesterol y del estrés oxidativo y, entre otros factores, disminuye la actividad de SOD (Samocha-Boret y col. 2012)

Samocha-Boret y col. (2012), realizan un seguimiento de 40 personas sanas, no obesas y sedentarias, las cuales comienzan una dieta hipercalórica y rica en grasas, comparándolas con un grupo control. Miden la actividad de SOD a los 3 y a los 28 días. Observan un aumento transitorio de la actividad SOD a los 3 días y una disminución de la actividad de esta enzima a los 28 días. Explican el incremento transitorio como una adaptación de la enzima al aumento de radicales libres producidos por la dieta hipercalórica y su descenso se debería al estado de saturación de la SOD presentado por estos pacientes el día 28 del estudio.

Por otra parte el ejercicio físico regular produce, como hemos dicho anteriormente, una mejora de los niveles de colesterol, lo cual se pone también de manifiesto en nuestro estudio. El ejercicio físico produce además mejoras del estrés oxidativo, las cuales se ven reflejadas en la actividad SOD. Otros estudios, al igual que el nuestro, encuentran mejoras sustanciales de la actividad de SOD, aunque estas mejoras no llegan a ser

significativas (Mena y col., 1991; Covas y col., 2002; Elosua y col., 2003). Se necesitaría un estudio más profundo, quizás haciendo distinción entre las distintas isoformas de esta enzima, para determinar el alcance real de los cambios producidos.

En nuestro estudio, encontramos una correlación positiva media ($r=0,322$; $P= 0,014$) entre la actividad de la enzima SOD y el nivel de triglicéridos plasmáticos. Esta tendencia contraria al colesterol, se debe a que los triglicéridos plasmáticos son menos susceptibles de peroxidación que el colesterol, suponiendo un sustrato menos susceptible de oxidación y por tanto genera menos radicales libres, siendo la elevación de la SOD suficiente en este caso para limitar la peroxidación. Como habíamos mencionado anteriormente la concentración elevada de triglicéridos sanguíneos aumenta el estrés oxidativo (Efe y col., 1999). Odalys y colaboradores (2009), realizan un estudio para determinar la relación entre el síndrome metabólico y el estrés oxidativo. Estudiaron a 30 pacientes con síndrome metabólico y compararon los resultados con un grupo control de 25 pacientes sanos. Encontraron un mayor estrés oxidativo en el grupo de pacientes con síndrome metabólico, siendo los triglicéridos la única variable del síndrome metabólico que tuvo una correlación significativa con el estrés oxidativo.

Por tanto, en nuestro estudio, se observa que la adaptación de una mejor calidad de vida cardiovascular, mediante la dieta y el ejercicio, produce una mejora en los niveles de colesterol y triglicéridos, lo cual lleva a un aumento de la actividad de SOD mejorando así la defensa antioxidante. Los pacientes que realizan nuestro PRC consiguen esta mejora gracias a los consejos e información nutricionales y al ejercicio físico realizado en la asociación de pacientes coronarios, así como al mejor control de los factores de riesgo por parte de nuestros profesionales (Sánchez Entrena, 2011).

5.4.4. Actividad enzimática de GPx.

La presencia de estrés oxidativo en el proceso aterogénico hace que la defensa antioxidante sea de especial importancia en la protección del endotelio tisular. La GPx es una de las enzimas principales de esta defensa (Fei Cheng y col., 2013).

Existen estudios que muestran un aumento del estrés oxidativo en pacientes hipertensos, encontrándose menor actividad de GPx en la sangre de las personas con mayor presión sanguínea. Además, al estudiar a los pacientes hipertensos con o sin

tratamiento se observa una actividad baja de GPx que aumenta al instaurar el tratamiento (Redon y col., 2003; Chaves y col., 2007).

Distintos estudios sugieren que poseer niveles bajos de GPx aumenta el riesgo de desarrollar ECVs. Por ejemplo, existen estudios que muestran que pacientes con historia previa de ECV y con menor actividad de GPx en eritrocitos mostraban un incremento en los eventos cardiovasculares padecidos (Blankenberg y col., 2003; Espinola-Klein y col., 2007). También se ha encontrado que los polimorfismos de la región promotora del gen de GPx produce una disminución de la expresión de esta enzima y eso se ha asociado a un aumento de la incidencia de ictus (Bierl y col., 2004).

Buijsse y col. (2012) realizaron un estudio de casos y controles con 346 pacientes participantes en el Minnesota Heart Survey y 250 controles. Encuentran una correlación lineal inversa entre la actividad de GPx en suero y la mortalidad de pacientes con enfermedad cardíaca coronaria, aterosclerosis e ictus.

En nuestro estudio no encontramos diferencias significativas en la actividad de GPx entre los pacientes que realizan o no realizan el PRC, sin embargo existe una intensa correlación negativa ($r = -0,630$; $P = 0,009$) entre la actividad de GPx y los niveles de colesterol LDL en el grupo de pacientes que no realiza el programa. Dicha correlación no se mantiene en el grupo que sí realiza la rehabilitación, es decir, mientras que la actividad de la GPx se mantiene estable en el grupo que hace rehabilitación, en el grupo que no sigue el PRC esta actividad disminuye según aumentan los niveles de colesterol LDL.

Esto podría sugerir una mejora en la actividad protectora de la enzima en este grupo de pacientes, lo suficientemente estable, como para impedir que exista dicha correlación en este grupo. Además el aumento de la actividad GPx en el macrófago puede contribuir a la atenuación de la aterosclerosis, limitando la generación de radicales libres en el endotelio vascular (Fei Cheng y col., 2013).

6. Conclusiones

Tras la discusión de los resultados obtenidos, se ha llegado a las siguientes CONCLUSIONES:

CONCLUSIÓN PRIMERA

El cumplimiento de un PRC disminuye el índice de masa corporal, los triglicéridos, el nivel de colesterol y la tensión arterial, ayudando a los sujetos a adoptar hábitos de vida saludables con respecto a la patología que sufren, disminuyendo el riesgo de sufrir nuevos eventos cardiovasculares en el futuro.

CONCLUSIÓN SEGUNDA

El incremento de la actividad enzimática de la CAT observada en los pacientes que siguen el PRC se debería tanto a mejoras producidas en la dieta, como a mejoras producidas gracias al ejercicio en el contexto del PRC. La correcta actividad de CAT observada en el presente estudio juega un papel importante en el desarrollo de la ECV, ya que protege el endotelio aórtico frente a la apoptosis causada por las LDL oxidadas.

CONCLUSIÓN TERCERA

La actividad de la GPx se mantiene estable y elevada en el grupo que hace rehabilitación, mientras que en el grupo que no hace rehabilitación esta actividad disminuye conforme aumentan los niveles de colesterol LDL. La estabilidad en la

actividad GPx con respecto a los niveles de colesterol LDL durante la rehabilitación, indican que puede contribuir a la atenuación de la aterosclerosis en dichos pacientes, por la disminución en la generación de radicales libres en las proximidades del endotelio vascular.

CONCLUSIÓN CUARTA

Existe una correlación negativa entre el nivel de colesterol total y la actividad de SOD en el conjunto completo de sujetos estudiados, probablemente debido al agotamiento de la actividad enzimática en la eliminación de radicales libres producidos bajo estas condiciones. Sin embargo, cuando estudiamos los grupos experimentales, comprobamos que esta asociación negativa no se mantiene en el grupo que realiza el PRC, persistiendo en el grupo que no realiza el PRC. Además, también encontramos una correlación positiva entre la actividad de la SOD y el nivel de triglicéridos plasmáticos, debida a que son un sustrato menos susceptible de oxidación que el colesterol y por tanto generan menos radicales libres, siendo la elevación de la SOD un mecanismo compensatorio suficiente para limitar la producción de ERO.

CONCLUSIÓN QUINTA

Los pacientes que realizan el PRC presentan menores niveles de peroxidación lipídica en comparación con aquellos que no realizan el PRC, debido a que adoptan unos mejores hábitos alimenticios con una disminución de la ingesta de grasa, mejorando el IMC, reduciendo el sustrato para la peroxidación lipídica. Existe una correlación

negativa entre la edad y la peroxidación lipídica en ambos grupos, debido al aumento del estrés oxidativo con la edad por la disminución de los sistemas enzimáticos antioxidantes. También hemos observado una correlación positiva entre los niveles de colesterol total y la peroxidación lipídica, ya que es uno de los principales sustratos plasmáticos susceptible de peroxidación, junto con otros fosfolípidos de membrana.

CONCLUSION SEPTA

Los pacientes que siguen el PRC reciben una información correcta sobre cómo intervenir en su ejercicio físico y en su alimentación para que esto tenga como resultado una mejora de su salud CV. Además reciben apoyo psicológico y se lleva un control de la intervención realizada a través de la asociación, por ejemplo con las sesiones de ejercicio realizadas en la misma. Sin embargo los pacientes que no siguen el PRC están menos controlados, reciben menos información de los profesionales sanitarios y más información de divulgación a través de medios de comunicación, lo cual puede llevar a confusión o engaño acerca de las medidas que deben seguir y esto se refleja en una menor efectividad de las mismas ya que no se está llevando a cabo una adecuada prevención secundaria de la ECV.

CONCLUSIÓN GENERAL

El PRC incrementa de manera general las actividades enzimáticas antioxidantes y los pacientes adoptan unos mejores hábitos alimenticios con una disminución de la ingesta de grasa, mejorando el IMC y perfil lipídico plasmático, por tanto reduciendo el sustrato para la peroxidación lipídica. Todos estos factores indican que la rehabilitación cardiaca puede contribuir a la atenuación de la aterosclerosis y el proceso

inflamatorio en dichos pacientes, por la disminución en la generación de radicales libres en las proximidades del endotelio vascular.

7. BIBLIOGRAFÍA

- ❖ **Abecia L. C., Aboal J. L., Aguinaga I, Aibar C., Alcaide J., Almaraz A.** Medicina Preventiva y Salud Pública. Barcelona. Ediciones Masson. 654-678. 2001.
- ❖ **Aebi H.** Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 150:121-127. 1984.
- ❖ **Aponte Ramírez Liudmila, Ramírez Zayas Roger, Hernández González Silvia, Somontes Zamora Dariel.** Los procesos de glucosilación no enzimática *Archivo Médico de Camagüey*, vol. 13, núm. 6, noviembre-diciembre, pp. 1-15, Centro Provincial de Información de Ciencias Médicas de Camagüey, Cuba. 2009.
- ❖ **Aguilera C. M., Mesa M. D., Ramirez-Tortosa M. C., Nestares M. T., Ros E., Gil A.** Sunflower oil does not protect against LDL oxidation as virgin olive oil does in patients with peripheral vascular disease. *Clin Nutr.* (4):673-81. 23 Aug 2004.
- ❖ **Alessandra Vezzoli, Lorenzo Pugliese, Mauro Marzorati, Fabio Rubens Serpiello, Antonio La Torre, Simone Porcell.** Time-Course Changes of Oxidative Stress Response to High-Intensity Discontinuous Training versus Moderate-Intensity Continuous Training in Masters Runners. *PLoS One.* 9(1):e87506. doi: 10.1371/journal.pone.0087506. 31 Jan 2014.
- ❖ **Alonso M., Anson R., Aranceta J., Astorga R., Ballesteros M. D., Barbany M.** Nutrición, Actividad Física y Prevención de la Obesidad. Estrategia. NAOS. Madrid. Editorial Médica Panamericana. 1-137. 2007.
- ❖ **Alvarez-Sala Walther L. A., Millán Núñez-Cortés, J.** Evidencias de la eficacia del tratamiento hipocolesterolemizante en la prevención primaria y secundaria de la cardiopatía isquémica *Medicina clínica.* 114(Supl. 2). 1-10. ISSN 00257753. 2000.
- ❖ **Amarenco, P., Bogousslavsky, J., Callahan, A., Goldstein L. B., Hennerici, M. Rudolph A. E., Sillesen H., Simunovic L., Szarek M., Welch K. M., Zivin J. A.** Stroke Prevention by Aggressive Reduction in Cholesterol Levels (SPARCL) Investigators. High-dose atorvastatin after stroke or transient ischemic attack. *The*

New England journal of medicine, 355(6), 549–59. doi:10.1056/NEJMoa061894. 2006.

- ❖ **Amirkhizi F., Siassi F., Djalali M., & Foroushani, A. R.** Assessment of antioxidant enzyme activities in erythrocytes of pre-hypertensive and hypertensive women. *Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 15(5), 270–8. 2010.
- ❖ **Anguita M., Alonso J., Bertomeu V., Gómez-Doblas J., López-Palop R., Pedreira M.** Diseño general del proyecto de estudio sobre la situación de la enfermedad cardiovascular de la mujer en España. *Rev Esp Cardiol Supl.* 8: 4D-7D. 2008.
- ❖ **Ascherio A., Rimm E. B., Hernan Giovannucci M. A., Kawachi I., Stampfer M. J.** Intake of potassium, magnesium, calcium, and fiber and risk of stroke among US men. *Circulation*, vol. 98, no. 12, pp. 1198–1204, 1998.
- ❖ **Aoun S., & Rosenberg, M.** Are rural people getting HeartSmart? *The Australian journal of rural health*, 12(2), 81–8. doi:10.1111/j.1038-5282.2004.00553.x. 2004.
- ❖ **Baena Díez José M., Del Val García José L., Tomàs Pelegrina Josefina, Martínez Martínez José L., Martín Peñacoba Raquel, González Tejón Iván, Raidó Quintana Eva M., Pomares Sajkiewicz Mónica, Altés Boronat Andreu, Álvarez Pérez Beatriz, Piñol Forcadell Pilar, Rovira España Mónica, Oller Colom Miquel.** Epidemiología de las enfermedades cardiovasculares y factores de riesgo en atención primaria *Cardiovascular Disease Epidemiology and Risk Factors in Primary Care* *Revista Española de Cardiología* Volume 58, Issue 4. Pages 367–373. April 2005.
- ❖ **Baena-Díez J. M., Ramos R. y Marrugat J.** Capacidad predictiva de las funciones de riesgo cardiovascular: limitaciones y oportunidades. *Rev Esp Cardiol Supl.* 9: 4B-13B. 2009.

- ❖ **Bierl C., Voetsch B., Jin R. C., Handy D. E., Loscalzo J.** Determinants of human plasma glutathione peroxidases (GPx3) expression. *J Biol Chem* 279:26839–26845. 2004.
- ❖ **Blankenberg S., Rupprecht H. J., Bickel C., Torzewski M., Hafner G., Tiret L., Smieja M., Cambien F., Meyer J., Lackner K. J.** AtheroGene Investigators. Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 349: 1605–1613. 2003.
- ❖ **Caliani S. E., Bravo Navas José C., Gómez-Doblas Juan J., Collantes Rivera Ricardo, González Jiménez Belén, Martínez Lao Matilde, De Teresa Galván Eduardo.** Rehabilitación cardíaca postinfarto de miocardio en enfermos de bajo riesgo. Resultados de un programa de coordinación entre cardiología y atención primaria. *Revista Española de Cardiología*, Volume 57, Issue 1, Pages 53-59. 2013.
- ❖ **Ceriello, A.** Oxidative Stress and Glycemic Regulation. *Metabolism*. Volume 49, Issue 2, Supplement 1, Pages 27–29. Feb 2000.
- ❖ **Ceriello A., Bortolotti N., Motz E., Crescentini A., Lizzio S., Russo A., Tonutti L., Taboga C.** Meal generated oxidative stress in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 21:1529–1533. 1998.
- ❖ **Céspedes Cabrera y Sánchez Serrano.** Algunos aspectos sobre el estrés oxidativo, el estado antioxidante y la terapia de suplementación. *Rev Cubana Cardiol*. 14(1):55-60. 2000.
- ❖ **Cheng Fei, Torzewski Michael, Degreif Adriana, Rossmann Heidi, Canisius Antje, Lackner Karl J.** Impact of Glutathione Peroxidase-1 Deficiency on Macrophage Foam Cell Formation and Proliferation: Implications for Atherogenesis. *PLOS ONE*. Volume 8, Issue 8, e72063. August 2013.

- ❖ **Chisolm G. M., Steinberg Daniel.** The oxidative modification hypothesis of atherogenesis: an overview. *Free Radical Biology and Medicine* Volume 28, Issue 12. Pages 1815–1826. 15 June 2000.
- ❖ **Chisolm G. M., Colles Scott M, Maxson Julie M., Carlson Sara G.** Oxidized LDL-Induced Injury and Apoptosis in Atherosclerosis: Potential Roles for Oxysterols *Trends in Cardiovascular Medicine* Volume 11, Issues 3–4. Pages 131–138. April–May 2001.
- ❖ **Clarke R., Frost C., Collin R., Appleby P. y Peto R.** Dietary lipids and blood cholesterol: quantitative meta-analysis of metabolic ward studies. *Br Med J.* 314: 112-7. 1997.
- ❖ **Couillard C., Despre 's J. P., Lamarche B., Bergeron J., Gagnon J., Leon A. S., Rao D. C., Skinner J. S., Wilmore J. H., Bouchard C.** Effects of endurance exercise training on plasma HDL cholesterol levels depend on levels of triglycerides: evidence from men of the Health, Risk Factors, Exercise Training and Genetics (HERITAGE) Family Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 21:1226–1232. 2001.
- ❖ **Covas M. I., Elosua R., Fito M., Alcántara M., Coca L., Marrugat J.** Relationship between physical activity and oxidative stress biomarkers in women. *Med Sci Sports Exerc.* 34:814/9. 2002.
- ❖ **Cubriilo Dejan, Djordjevic Dusica, Zivkovic Vladimir, Djuric Dragan, Blagojevic Dusko, Spasic Mihajlo, Jakovljevic Vladimir.** Oxidative stress and nitrite dynamics under maximal load in elite athletes: relation to sport type. *Mol Cell Biochem.* DOI 10.1007/s11010-011-0864-8. 2011.
- ❖ **De Lorgeril Michel, Salen Patricia.** Selenium and antioxidant defenses as major mediators in the development of chronic heart failure. *Heart Failure Reviews.* Volume 11, Issue 1, pp 13-17. March 2006.

- ❖ **De Marchi Elena, Baldassari Federica, Bononi Angela, Wieckowski Mariusz R., y Paolo Pinton.** Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases and Obesity: Role of p66Shc and Protein Kinase C. Hindawi Publishing Corporation Oxidative Medicine and Cellular Longevity Volume 2013, Article ID 564961,11. 2013.
- ❖ **De Velasco J. A., Cosín J., López-Sendón J. L., De Teresa E., De Oya M., Sellers G.** Rev Esp Cardiol. New data on secondary prevention of myocardial infarction in Spain. Results of the PREVESE II study. *55*(8):801-9. Aug 2002.
- ❖ **Di Simplicio P., De Giorgio L. A., Cardaioli E., Lecis R., Micali M., Rossi R., Anichini R.** Glutathione, glutathione utilizing enzymes and thioltransferase in platelets of insulin-dependent diabetic patients: relation with platelet aggregation and with microangiopathic complications. *European Journal of Clinical Investigation.* *25*, 665-669. 1995.
- ❖ **Diaz Rodriguez Angel.** Educación sanitaria e interrogantes en patologías para la oficina de farmacia 2. Editorial: *International Marketing & Communication* ISBN 978-84-7867-184-7. 2012.
- ❖ **Diniz Y. S., Cicogna A. C., Padovani C. R., Santana L. S., Faine L. A., Novelli F. L.** Diets rich in saturated and polyunsaturated fatty acids: metabolic shifting and cardiac health. *Nutrition.* *20*: 230-234. 2004.
- ❖ **Duncan G. E., Anton S. D., Sydemann S. J., Newton R. L. Jr., Corsica J. A., Durning P. E., Ketterson T. U., Martin A. D., Limacher M. C., Perri M. G.** Prescribing exercise at varied levels of intensity and frequency: a randomized trial. *Arch Intern Med.* *165*:2362–2369. 2005.
- ❖ **Dzeletovic S., Babiker A., Lund E., Diczfaluzy U.** Time course of oxysterol formation during in vitro oxidation of low density lipoprotein. *Chem Phys Lipids.* *78*:119-28. 1995.

- ❖ **Efe H., Deger O., Kirci D.** Decreased neutrophil antioxidative enzyme activities and increased lipid peroxidation in hyperlipoproteinemic human subjects. *Clin Chim Acta.* 279:155–165. 1999.
- ❖ **Elosua R., Molina L., Fito M., Arquer A., & Sanchez-quesada J. L.** Response of oxidative stress biomarkers to a 16-week aerobic physical activity program, and to acute physical activity, in healthy young men and women. *System*, 167, 327–334. doi:10.1016/S0021-9150(03)00018-2. 2003.
- ❖ **Espinola-Klein C., Rupprecht H. J., Bickel C., Schnabel R., Genth-Zotz S.** AtheroGene Investigators. Glutathione peroxidase-1 activity, atherosclerotic burden, and cardiovascular prognosis. *Am J Cardiol* 99: 808–812. 2007.
- ❖ **Fagard R. H.** Exercise characteristics and the blood pressure response to dynamic physical training. *Med Sci Sports Exerc.* 33:S484-92. 2001.
- ❖ **Fernández Camps R. Genellys.** Tratamiento no farmacológico de la tensión arterial. *Endocrinología y Nutrición, Medicina Interna, Cardiología.* 2008.
- ❖ **Ferroni P., Basili S., Paoletti V., & Davì, G.** Endothelial dysfunction and oxidative stress in arterial hypertension. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases: NMCD*, 16(3), 222–33. doi:10.1016/j.numecd.2005.11.012. 2006.
- ❖ **Festa A., D’Agostino R., Howard G., Mykkänen L., Tracy R. P., & Haffner, S. M.** Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Circulation*, 102(1), 42–7. 2000.
- ❖ **Flag Jerome L.** Aerobic exercise in the elderly: a key to successful aging. *Discov Med.* 13(70):223-8. Mar 2012.
- ❖ **Flohé L., Gunzler W.A.** “Assays of glutathione peroxidase”. *Method. Enzymol.* 105: 114-121. 1984.
- ❖ **Fogelman A. M., Shechter, I., Seager, J., Hokom, M., Child, J. S., & Edwards, P. A.** Lipoproteins cholesteryl monocyte-macrophages, 77(4), 2214–2218. 1980.

- ❖ **Fox C. S., Massaro J. M., Hoffmann U., Pou K. M., Maurovich-Horvat P., Liu C. Y., Vasan R. S., Murabito J. M., Meigs J. B., Cupples L. A., D'Agostino R. B. Sr., O'Donnell C. J.** Abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue compartments: association with metabolic risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation*. 116:39–48. 2007.
- ❖ **Freedman, J. E.** Oxidative stress and platelets. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 28(3), s11–6. doi: 10.1161 / ATVBAHA .107.159178. 2008.
- ❖ **Furukawa S., Fujita T., Shimabukuro M., Iwaki M., Yamada Y., Nakajima Y., Nakayama O., Makishima M., Matsuda M., Shimomura I.** Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 114: 1752–1761. 2004.
- ❖ **García Delgado, Pablo L., Pérez Coronel; Juan Chí Arcia; Martínez Torrez Jacqueline; Pedroso Morales Isis.** Efectos terapéuticos del ejercicio físico en la hipertensión arterial. *Rev cubana med (online)*. Vol.47, n.3, pp. 0-0. ISSN 1561-302X. 2008.
- ❖ **García-Dorado D., Castro-Beiras A., Díez J., Gabriel R., Gimeno-Blanes J. R., Ortiz de Landázuri M., Sánchez P. L., Fernández-Avilés F.** Grupos que integran la red RECAVA. Red Temática de Investigación Cooperativa en Enfermedades Cardiovasculares (RECAVA). *Revista Española de Cardiología*, 61(1), 58–65. doi:10.1157/13114958. 2008.
- ❖ **Ginsberg H .N., Bonds D. E., Lovato L. C.** Evolution of the lipid trial protocol of the Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes (ACCORD) trial. *Am J Cardiol*. 99: 56i-67i. 2007.
- ❖ **Gohil K., Viguie C., Stanley W. C., Brooks G. A., Packer L.** Blood glutathione oxidation during human exercise. *J Appl Physiol*. 64:115. 1988.

- ❖ **Golbidi S., Badran M., & Laher, I.** Antioxidant and anti-inflammatory effects of exercise in diabetic patients. *Experimental diabetes research*, 2012, 941868. doi:10.1155/2012/941868. 2012.
- ❖ **Gonzalez R. H, Nuñez Hernandez Ismaris, Rivas Estany Eduardo, Alvarez Gomez Juan A.** Influencia de un programa de rehabilitación integral en pacientes hipertensos-obesos. *Revista Digital -Beno Aires_ Año 9- N°59_ Abril de 2003*
- ❖ **González C.** Clínica de la hipertensión. México, Ediciones Médicas Actualizadas.119-162. STRIPPING A: Abriendo paso para un corazón sano. The barriers to a healthy heart. Estados Unidos, Grundy Lane. 1-15. 1997.
- ❖ **Gutteridge J. M.** Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem*. 41:1819. 1995.
- ❖ **Hatton D. C. y McCarron D. A.** Dietary calcium and blood pressure in experimental models of hypertension. A review *Hypertension*. 23: 513-30. 1994.
- ❖ **Ioanna A, Efstathios K, Dimitrios F & Dimitrios Th. Kremastinos** To prevent, protect and save the ischemic heart: antioxidants revisited. Vol. 13, No. 8 , Pages 945-956. August 2009.
- ❖ **Karppi J., Laukkanen J. A., Mäkikallio T. H., Kurl S.** Low serum lycopene and β -carotene increase risk of acute myocardial infarction in men. *Eur J Public Health*. 22(6):835-40. doi: 10.1093/eurpub/ckr174. 2012.
- ❖ **Kavanagh T., Mertens P. J., Hamm L. F., Beyene J., Kennedy J., Corey P. y Shepphard M.** Prediction of long-term prognosis in 12.169 men referred for cardiac rehabilitation. *Circulation*. 106: 666-71. 2002.
- ❖ **Kędziora-Kornatowska, Jolanta Czuczejko, Hanna Pawluk, Tomasz Kornatowski, Jadwiga Motyl, Leszek Szadujkis-Szadurski, Karolina Szewczyk-Golec and Józef Kędziora.** The markers of oxidative stress and activity of the antioxidant system in the blood of elderly patients with essential

arterial hypertension cellular & molecular biology letters Volume 9. pp 635 – 641. 2004.

- ❖ **Kuulasmaa K., Tunstall-Pedoe H., Dobson A.** Estimation of contribution of changes in classic risk factors to trends in coronary-event rates across the WHO-MONICA Project populations. *Lancet*. 355: 675-687. 2000.
- ❖ **Lahoz, C., & Mostaza, J. M.** (2007). La Aterosclerosis como enfermedad sistémica. *Revista Española de Cardiología*, 60(2), 184–195. doi:10.1157/13099465
- ❖ **Larsson D. A., Baird S., Nyhalah J. D., Yuan X. M., Li W.** Oxysterol mixtures, in atheroma-relevant proportions, display synergistic and proapoptotic effects. *Free Radic Biol Med*. 41:902-10. 2006.
- ❖ **León-Latre M., Mazón-Ramos P., Marcos E., García-Porrero E.** Temas de actualidad en prevención cardiovascular y rehabilitación cardíaca. *Rev Esp Cardiol*. 62(Supl 1): 4-13. 2009.
- ❖ **Lieberman L., Meana M y Stewart D.** Cardiac rehabilitation: gender differences in factors influencing participation. *J Womens Health*. 7: 717-23. 1998.
- ❖ **Lin S. J., Shyue S. K., Shih M. C., Chu T. H., Chen Y. H., Ku H. H., Chen J. W., Tam K. B., Chen Y. L.** Superoxide dismutase and catalase inhibit oxidized low-density lipoprotein-induced human aortic smooth muscle cell proliferation: role of cell-cycle regulation, mitogen- activated protein kinases, and transcription factors. *Atherosclerosis*. 190:124-34. 2007.
- ❖ **Lindsay, D. G., & Astley, B.** European research on the functional effects of dietary antioxidants – EUROFEDA. *Molecular Aspects of Medicine*, 23, 1–38. 2002.
- ❖ **Lobos J. M., Royo-Bordonada M. A., Brotons C., Alvarez-Sala L., Armario P., Maiques A., Mauricio D., Sans S., Villar F., Lizcano A., Gil-Núñez A., Alvaro F.D., Conthe P., Luengo E., Río A. D., Cortés-Rico O., Santiago**

- A.D., Vargas M.A., Martínez M., Lizarbe V., Comité Español Interdisciplinario para la Prevención Cardiovascular, Comité Español Interdisciplinario.** European Guidelines on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice: CEIPC. *Rev Esp Salud Publica.* 82(6):581-616. Nov-Dec 2008.
- ❖ **Lubos Edith, Sinning Christoph R., Schnabel Renate B., Wild Philipp S., Zeller Tanja, Rupprecht Hans J., Bickel Christoph, Lackner Karl J., Peetz Dirk, Loscalzo Joseph, Münzel Thomas, Blankenberg Stefan.** Serum selenium and prognosis in cardiovascular disease: results from the *AtheroGene* study. *Atherosclerosis* Volume 209, Issue 1. Pages 271–277. March 2010.
 - ❖ **Lucas, D. T., & Szweda, L. I.** Cardiac reperfusion injury: aging, lipid peroxidation, and mitochondrial dysfunction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(2), 510–4. 1998.
 - ❖ **Macedo M. R., Bertolami M. C., Castro N., & Castro, I. A.** Article in press. *Atherosclerosis*, 8–15. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2010.12.013. 2011.
 - ❖ **Mahfouz M. M., Kummerow F. A.** Cholesterol-rich diets have different effects on lipid peroxidation, cholesterol oxides and antioxidant enzymes in rats and rabbits. *J Nutr Biochem.* 11: 293-302. 2000.
 - ❖ **Maksimenko, A. V., & Vavaev, A. V.** Antioxidant enzymes as potential targets in cardioprotection and treatment of cardiovascular diseases. *Enzyme antioxidants: the next stage of pharmacological counterwork to the oxidative stress.* *Heart international*, 7(1), e3. doi:10.4081/hi.2012.e3. 2012.
 - ❖ **Marco Matteo Ciccone, Cortese Francesca, Gesualdo Michele, Carbonara Santa, Zito Annapaola, Ricci Gabriella, De Pascalis Francesca, Scicchitano Pietro y Riccioni Graziano.** *Dietary Intake of Carotenoids and Their Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects in Cardiovascular Care.* Hindawi Publishing

Corporation Mediators of Inflammation Volume. Article ID 782137, 11 pages. 2013.

- ❖ **Martin W. H. 3rd.** Effects of acute and chronic exercise on fat metabolism. *Exerc Sport Sci Rev.* 24:203–231. 1996.
- ❖ **Mataix J., Ramírez J. A. y Solá R.** Situaciones fisiológicas y patológicas: Enfermedades del sistema circulatorio. En: Mataix J, ed. *Nutrición y alimentación humana.* 2ª edición. Madrid. Editorial Ergón. (vol.II): 1472- 1508. 2009.
- ❖ **Mena P., Maynar M., Gutierrez J. M.** Erythrocyte free radical scavenger enzymes in bicycle professional racers. Adaptation to training. *Int J Sports Med.* 12:563. 1991.
- ❖ **Milani R. V., & Lavie, C. J.** Prevalence and profile of metabolic syndrome in patients following acute coronary events and effects of therapeutic lifestyle change with cardiac rehabilitation. *The American journal of cardiology,* 92(1),50-4. 2003.
- ❖ **Miranda E. C., & Herrera I. J. C.** La peroxidación lipídica en el diagnostico del estrés oxidativo del paciente hipertenso. ¿ Realidad o mito? *Lipid peroxidation in diagnosis of oxidative stress of hypertensive patient . Reality or myth?*, 1–13. 2008.
- ❖ **Mohanty P., Hamouda W., Garg R., Aljada A., Ghanim H., Dandona P.** Glucose challenge stimulates reactive oxygen species generation by leucocytes. *J Clin Endocrinol Metab.* 85:2970–4. 2000.
- ❖ **Natale Vazzana M. D., Antonina Ganci M. D., Angelo Baldassare Cefalu M., D., Stefano Lattanzio B. S. S., Davide Noto M.D., Nicole Santoro M. D., Raoul Saggini M. D., Luca Puccetti M. D., Maurizio Averna, M. D., Giovanni Davì M. D.** Enhanced Lipid Peroxidation and Platelet Activation as Potential Contributors to Increased Cardiovascular Risk in the Low-HDLPhenotype *J Am Heart Assoc.* 2:e000063 doi: 10.1161/JAHA.113.000063). 2013.

- ❖ **Navab M., Ananthramaiah G. M., Reddy S. T., Lenten B. J. V., Ansell B. J., Fonarow G. C., Vahabzadeh K., Hama S., Hough G., Kamranpour N., Berliner J. A., Lusis A. J., Fogelman A. M.** The oxidation hypothesis of atherogenesis: the role of oxidized phospholipids and HDL. *Artery*, 45, 993–1007. doi:10.1194/jlr.R400001-JLR200. 2004.
- ❖ **Nestares T., López-Jurado M., Urbano G., Seiquer I., Ramírez-Tortosa M. C., Ros E., Mataix J., Gil A.** Effects of lifestyle modification and lipid intake variations on patients with peripheral vascular disease. *Int J Vitam Nutr Res*. 73(5):389-98. Oct 2003.
- ❖ **Onishi T., Shimada K., Sato H., Seki E., Watanabe Y., Sunayama S.** Effects of Phase III Cardiac Rehabilitation on Mortality and Cardiovascular Events in Bibliografía 246 Elderly Patients With Stable Coronary Artery Disease. *Circulation Journal*. 74(4): 709-714. 2010.
- ❖ **Ozyilmaz G., Tukul S. S.** Simultaneous co-immobilization of glucose oxidase and catalase in their substrates *Applied Biochemistry and Microbiology*. Volume 43, Issue 1, pp 29-35. January–February 2007.
- ❖ **Pérez Barreda Aylen, Cuba Rodriguez Ana Liuvys, Pedroso Morales Isis, García Delgado José Ángel, Aroche Aportela Ronald.** Comprehensive cardiac rehabilitation of cardiovalc risk factors. *Centro de Investigaciones Médico Quirúrgicas CIMEQ*. La Habana, Cuba. 2010.
- ❖ **Physiol A. J., Metab E., May F., Rector R. S., Warner S. O., Liu Y., Hinton P. S., Sun G. Y., Cox R. H., Stump C. S., Laughlin M. H., Dellsperger K. C., Thomas T. R.** Exercise and diet induced weight loss improves measures of oxidative stress and insulin sensitivity in adults with characteristics of the metabolic syndrome *Exercise and diet induced weight loss improves measures of*

- oxidative stress and insulin sensitivit. American Journal Of Physiology, (May 2007). doi:10.1152/ajpendo.00116.2007. 2012.
- ❖ **Pischom Tobias, Girman Cynthia J., Sacks Frank M., Rifai Nader, Stampfer Meir J., Rimm Eric B.** Non-High-Density Lipoprotein Cholesterol and Apolipoprotein B in the Prediction of coronary Heart Disease in Men. American Heart Association. 112:3375-3383. DOI 10.1161. 2005.
 - ❖ **Pinson A. G.** Rehabilitación cardiaca en pacientes portadores de cardiopatía isquémica. Rev Enferm IMSS. 9(2): 97-103. 2001.
 - ❖ **Plaza I., García S., Madero R., Zapata M. A., Perea J., Sobrino J. A. y López Sendón J. L.** Programa de prevención secundaria: influencia sobre el riesgo cardiovascular. Rev Esp Cardiol. 60: 205-8. 2007.
 - ❖ **Polidori M. C., Mecocci P., Cherubini A., Senin U.** Physical activity and oxidativestress during aging. Int J Sports Med. 21: 154-7. 2000.
 - ❖ **Raatz Susan K., Silverstein Jeffrey T., Jahns Lisa y Picklo Matthew J. Sr.** Issues of Fish Consumption for Cardiovascular Disease Risk Reduction. Nutrients. 5, 1081-1097; doi:10.3390/nu5041081. 2013.
 - ❖ **Rader, D. J.** Inflammatory markers of coronary risk. The New England journal of medicine, 343(16), 1179–82. doi:10.1056/NEJM200010193431609. 2000.
 - ❖ **Rector R. Scott, Warner Shana O., Liu Ying, Hinton Pamela S., Sun Grace Y., Cox Richard H., Stump Craig S., Laughlin M. Harold, Dellsperger Kevin C. y Thomas Tom R.** Exercise and diet induced weight loss improves measures of oxidative stress and insulin sensitivity in adults with characteristics of the metabolic syndrome *Am J Physiol Endocrinol Metab* 293: E500–E506. doi:10.1152/ajpendo.00116. 2007.

- ❖ **Redón J., Oliva M. R., Tormos C., Giner V., Chaves J., Iradi A., & Sáez G. T.** Antioxidant activities and oxidative stress byproducts in human hypertension. *Hypertension*, 41(5), 1096–101. doi: 10.1161/01. 2003.
- ❖ **Rojas P., Montero J. y Moore P.** Temas de medicina ambulatoria: Hipertensión arterial. P. Universidad Católica de Chile. 2009.
- ❖ **Rosenblat Mira, Aviram Michael.** Macrophage Glutathione. Content and Glutathione Peroxidase Activity Are Inversely Related to Cell-Mediated Oxidation of LDL: In Vitro and In Vivo Studies Lipid Research Laboratory, Technion Faculty of Medicine, The Rappaport Family Institute for Research in the Medical Sciences and Rambam Medical Center, Haifa, Israel , How to Cite or Link Using DOI. Permissions & Reprints. 1998.
- ❖ **Salonen R. M., Nyssönen K., Kaikkone, J., Porkkala-Sarataho E., Voutilainen S., Rissanen T. H., Tuomainen T. P., Valkonen V. P., Ristonmaa U., Lakka H. M., Vanharanta M., Salonen J. T., Poulsen H. E.** Six-year effect of combined vitamin C and E supplementation on atherosclerotic progression: the Antioxidant Supplementation in Atherosclerosis Prevention (ASAP) Study. *Circulation*, 107(7), 947–53. 2003.
- ❖ **Samocha-Bonet D., Campbell L. V., Mori T. A., Croft K. D., Greenfield J. R., Turner N., & Heilbronn L. K.** Overfeeding Reduces Insulin Sensitivity and Increases Oxidative Stress, without Altering Markers of Mitochondrial Content and Function in Humans. *PloS one*, 7(5), e36320. doi:10.1371/journal.pone.0036320. 2012.
- ❖ **Sanchez Entrena María Esther.** Estudio de la eficacia de un programa de rehabilitación cardiaca sobre algunos factores de riesgo en pacientes coronarios. ISBN: 978-84-9028-084-3. 2011.

- ❖ **Sara Arranz, Gemma Chiva-Blanch, Palmira Valderas-Martínez, Alex Medina-Remón, Rosa M. Lamuela-Raventós and Ramón Estruch.** Wine, Beer, Alcohol and Polyphenols on Cardiovascular Disease and Cancer. *Nutrients*. 4, 759-781; doi:10.3390/nu4070759. 2012.
- ❖ **Saranz Zago, Anderson, Reis Silveira Leonardo, Kokubun Eduardo.** Effects of aerobic exercise on the blood pressure, oxidative stress and eNOS gene polymorphism in pre-hypertensive older people *Eur J Appl Physiol*. 110:825–832 DOI 10.1007/s00421-010-1568-6. 2010.
- ❖ **Seckin Ozkanlar, Fatih Akcay.** Antioxidant Vitamins in Atherosclerosis, Animal Experiments and Clinical Studies. *Adv Clin Exp Med*. 21, 1, 115–123 ISSN 1899-5276. 2012.
- ❖ **Shinmura Ken.** Effects of Caloric Restriction on Cardiac Oxidative Stress and Mitochondrial Bioenergetics: Potential Role of Cardiac Sirtuins Hindawi Publishing Corporation *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* Volume. Article ID 528935, 11 pages. 2013.
- ❖ **Smith S. C., Allen J., Blair S. N., Bonow R. O., Brass L. M., Fonarow G. C.** AHA/ACC guidelines for secondary prevention for patients with coronary and other atherosclerotic vascular disease: 2006 update: endorsed by the National Heart, Lung, and Blood Institute. *Circulation*. 113: 2363-2372. 2006.
- ❖ **Szczeklik A., Gryglewski R. J., Domagala B., Dworski R., Basista M.** Dietary supplementation with vitamin E in hyperlipoproteinemias: effects on plasma lipid peroxides, antioxidant activity, prostacyclin generation and platelet aggregability. *Thromb Haemost*. 54:425–430. 1985.
- ❖ **Tosaki A., Bagchi D., Pali T., Cordis G. A. & Das D. K.** *Biochem. Pharmacol.* 45, 961–969. 11. Xia, Y., Khatchikian, G. & Zweier, J. L. *J. Biol. Chem.* 271, 10096–10102. 1996.

- ❖ **Tzu-Ching Yang, Yi-Jie Chen, Shwu-Fen Chang, Chu-Huang Chen, Po-Yuan, Shao-Chun Lu.** Malondialdehyde mediates oxidized LDL-induced coronary toxicity through the Akt-FGF2 pathway via DNA methylation *Journal of Biomedical Science*. 21:11 doi:10.1186/1423-0127-21-11. 2014.
- ❖ **Ulate-Montero G., Fernandez-Ramirez A.** Relaciones del perfil lipídico con variables dietéticas, antropométricas, bioquímicas, y otros factores de riesgo cardiovascular en estudiantes universitarios. *Acta Médica Costarricense* ISSN 0001-6012 *Acta méd. costarric* vol.43 no.2 San José jun. 2001.
- ❖ **Vázquez-Arce, E. Marqués-Sulé, J.L. Marqués-Defez, C. Ferrando-Bolado, M.J. Naranjo-Blanco.** Rehabilitación cardíaca postinfarto mediante programa Euroaction. *Rehabilitación*, Volume 47, Issue 3, Pages 154-161. 2013.
- ❖ **Velasco J. A., Cosin J., Oya M. de y Teresa E. de.** Prevención secundaria temprana. *Rev Esp Cardiol*. 57(2): 146-54. 2004.
- ❖ **Venero Gutierrez Justo R.** Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev Cub Med Mil*. vol.31, n.2, pp. 126-133. ISSN 1561-3046. 2002.
- ❖ **Vida S. D. E.** la epidemia de obesidad, 20 (Supl 1), 48-54. 2006.
- ❖ **Yamashita N., Hoshida S., Otsu K., Asahi M., Kuzuya T., Hori M.** Exercise provides direct biphasic cardioprotection via manganese superoxide dismutase activation. *Journal of Experimental Medicine*. 189(11):1699-1706. 1999.
- ❖ **Yochum L., Kushi L.H., Meyer K., Folsom A.R.** Dietary flavonoid intake and risk of cardiovascular disease in postmenopausal women. *Am. J. Epidemiol*. 149, 943-949. 1999.
- ❖ **Zalba G., San Jose G., Moreno M. U., Fortuno A., Diez J.** NADPH Oxidase - mediated oxidative stress: genetic studies of the p22(phox) gene in hypertension. *Antioxid Redox Signal* 7:1327-1336. 2005.

- ❖ **Zaruelo Zurita.** Actualización al tratamiento farmacológico de las enfermedades cardiovasculares. Editorial Farmanova. ISBN: 978-84-613-5619-5. GR 3469-2009
- ❖ **Zufeng Ding, Shijie Liu, Xianwei Wang, Magomed Khaidakov, Yao Dai & Jawahar L. Mehta.** Oxidant stress in mitochondrial DNA damage, autophagy and inflammation in atherosclerosis. Scientific Reports 3:1077 DOI: 10.1038/srep01077. 2013.
- ❖ **“IV diretriz brasileira sobre dislipidemias e prevencao da aterosclerose. Departamento de aterosclerose da sociedade Brasileira de cardiologia,”** Arquivos Brasileiros de Cardiologia, vol. 88, suplemento 1, pp. 2–19, 2007.