

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE MEDICINA Y PSICOLOGÍA**



TÍTULO

**ESTIMACIÓN DE ESTRÉS OXIDATIVO Y ESTRÉS ACADÉMICO EN ESTUDIANTES
UNIVERSITARIOS DE TIJUANA**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS MÉDICAS**

PRESENTA:

L.T.F. SUGEI EDELMIRA LUNA MORALES

DIRECTORA DE TESIS

DRA. SUSANA GONZÁLEZ REYES

CODIRECTORA DE TESIS

DRA. IDANYA RUBÍ SERAFÍN HIGUERA

TIJUANA, B. C., MÉXICO

DICIEMBRE DE 2021

DEDICATORIA

A los seres que más amo en la vida, Pablo Álvaro, Luisa Valentina y Karla Alanis, por su inmenso amor y comprensión.

A Juan Pablo por su apoyo y tolerancia.

A mí misma por nunca desviarme del objetivo final y poner todo mi empeño.

A mi gran amiga y compañera GiGi, por acompañarme en esas noches tan largas, por estar siempre conmigo y amarme sin condiciones.

AGRADECIMIENTOS

A mi Directora de tesis la Dra. Susana González Reyes por su tiempo y paciencia, a la Universidad Autónoma de Baja California por brindarme la oportunidad de superarme profesionalmente dentro de sus instalaciones, a los administrativos que fueron de gran ayuda para realizar los trámites necesarios, a cada uno de mis profesores por mostrarme su pasión por la ciencia y por compartir sus conocimientos, a mis compañeros por el apoyo durante nuestra estadía en la maestría, al CONACYT por el apoyo con la beca 2371786, a cada persona que me tendió la mano y que fueron un gran apoyo durante mi formación.

APROBACIÓN DE LA TESIS

“ESTIMACIÓN DE ESTRÉS OXIDATIVO Y ESTRÉS ACADÉMICO EN ESTUDIANTES UNIVERSITARIOS DE TIJUANA”, como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS MÉDICAS

Ha sido aprobado y aceptado por:

Dra. Susana González Reyes

DIRECTOR(A) DE TESIS

Dra. Idanya Rubí Serafín Higuera

SINODAL

Dr. Manuel Sánchez Alavéz

SINODAL

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

“ESTIMACIÓN DE ESTRÉS OXIDATIVO Y ESTRÉS ACADÉMICO EN ESTUDIANTES UNIVERSITARIOS DE TIJUANA”

Se permite el uso académico de información contenida en esta tesis, siempre y cuando se otorgue el crédito correspondiente al autor. Para la reproducción parcial o total de este documento con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de las autoridades que avalan esta tesis.

Dra. Susana González Reyes

RESPONSABLE DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS

Dra. Julieta Yadira Islas Limón

DIRECTORA DE LA FACULTAD DE MEDICINA Y PSICOLOGÍA

Dr. Carlos José Martín Vera Hernández

SUB-DIRECTOR DE LA FACULTAD DE MEDICINA Y PSICOLOGÍA

RESUMEN

Los estudiantes universitarios que cursan la licenciatura de medicina están continuamente expuestos a diferentes estresores académicos que pueden desencadenar síntomas que afectan la salud y deterioran su calidad de vida.

En 81 estudiantes de la facultad de medicina y psicología de la Universidad Autónoma de Baja California se estimó el estrés oxidativo con la cuantificación de los tioles totales, la actividad enzimática de la superóxido dismutasa citosólica, además de los niveles de estrés académico por inventario de SISCO, niveles de cortisol, hábitos alimenticios y estado de salud en el último año.

Los resultados muestran que los estudiantes del área de la salud si presentan diferentes estresores académicos que les ocasionan malestares somáticos, sin embargo, los cambios en la actividad enzimática y el marcador de estrés oxidante no tuvo un cambio significativo. Asimismo el consumo de diferentes alimentos, muestra que el consumo de productos vegetales y frutas no es habitual en los estudiantes de la carrera de medicina.

Se puede sugerir que el estrés académico a largo plazo podría estar relacionado con enfermedades que no permitiría tener una calidad de vida saludable, por lo cual se debe concientizar al alumnado y académicos sobre la situación, creando estrategias viables para el control de estrés.

Palabras claves: Estrés académico, estrés oxidativo, antioxidantes, estudiantes de medicina

ABSTRACT

University students studying for a medical degree are continuously exposed to different academic stressors that can trigger symptoms that affect health and deteriorate their quality of life.

In eighty-one students of the Faculty of Medicine and Psychology of the Autonomous University of Baja California, oxidative stress was estimated with the quantification of total thiols, the enzymatic activity of cytosolic superoxide dismutase, in addition to the levels of academic stress by SISCO inventory, cortisol levels, eating habits, and state of health in the last year.

The results show that the students in the health area do present different academic stressors that cause somatic discomfort, however, the changes in enzyme activity and the oxidative stress marker did not have a significant change. Likewise, the consumption of different foods shows that the consumption of vegetable products and fruits is not usual in medical students.

It can be suggested that long-term academic stress could be related to diseases that would not allow a healthy quality of life, so students and academics should be made aware of the situation, creating viable strategies to control stress.

Keywords: Academic stress, oxidative stress, antioxidants, medical students

TABLA DE CONTENIDO

ABREVIATURAS	11
I. INTRODUCCIÓN.....	13
II. ANTECEDENTES.....	15
II.I.I. Oxígeno y generación de ROS.....	15
II.I.II. Agentes antioxidantes.....	17
II.I.III. Estrés oxidativo.....	21
II.I.IV. Estrés oxidativo y estrés psicosocial.....	22
II.I.V. Estrés oxidativo y estrés académico.....	24
II.II. JUSTIFICACIÓN.....	27
II.III. OBJETIVO GENERAL	28
II.IV. OBJETIVOS PARTICULARES	28
II.V. HIPÓTESIS	28
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
III.I. Sujetos de estudio	29
III.II. Toma de muestras.....	29
III.III. Instrumentos psicométricos	30
III.IV. Determinación de actividad de enzimas antioxidantes	32
III.IV.I. Superóxido dismutasa.....	32
III.IV.II. Tioles totales.....	32
III.IV.III. Cuantificación de proteínas.....	33
III.IV.IV. Determinación de niveles de cortisol.....	33
V. RESULTADOS.....	35
VI. DISCUSIÓN.....	41
VII. CONCLUSIÓN	42
V. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	43
ANEXOS	54
Anexos.....	54
CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS POR BCA	10
DETERMINACIÓN DE NIVELES DE CORTISOL	10

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Datos generales de los participantes.....	35
Tabla 2. Medidas antropométricas de los estudiantes.....	35
Tabla 3. Mediciones generales de las determinaciones.....	36
Tabla 4. Porcentaje de alimentos mayor y menormente consumidos por los estudiantes.....	36
Tabla 5. Determinaciones de estudiantes con niveles de estrés académico percibido medio, cortisol elevados y su relación con los demás parámetros medidos.....	40
Tabla 6. Determinaciones de estudiantes con niveles de estrés académico bajo percibido, niveles de cortisol, y los demás parámetros.....	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Cadena transportadora de electrones mitocondrial.....	15
Figura 2. Sistema enzimático antioxidante.....	17
Figura 3. NRF2 en condiciones basales y en presencia de EO.....	18
Figura 4. Vía de regulación y señalización de ROS y biomarcadores.....	19
Figura 5. Factores estresores generadores de ROS y biomarcadores de EO.....	21
Figura 6. Esquema de metodología empleada en el estudio.....	28
Figura 7. Patologías padecidas en el último año, referidas por los estudiantes.....	37
Figura 8. Porcentaje de medicamentos utilizados en el último año por los alumnos participantes.....	38
Figura 9. Porcentaje de frecuencia de síntomas referidos por los estudiantes.....	38
Figura 10. Porcentaje de frecuencia a sentir estrés académico, mediante inventario de SISCO.....	39
Figura 11. Porcentaje de respuesta al nivel de estrés académico mediante inventario de SISCO	39

ABREVIATURAS

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ADP: Adenosín difosfato

ARE: Elemento regulador antioxidante

ATP: Adenosín trifosfato

BCA: Ácido bicinconínico

CoQ: Coenzima Q

Cu: Cobre

EA: Estrés académico

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

ELISA: Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzima

EO: Estrés oxidativo

EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica

ETC: Cadena transportadora de electrones

FAD⁺: Flavin adenin dinucleótido (oxidado)

FADH: Flavin adenin dinucleótido (reducido)

H₂O₂: Peróxido de hidrógeno

IMM: Membrana mitocondrial interna

MDA: Malondialdehído

Mg: Manganeseo

mg/L: miligramo por litro

NAD⁺: Nicotamida adenina dinucleótido (oxidada)

NADH: Nicotamida adenina dinucleótido (reducida)

NF-κB: Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas

NRF2: Factor relacionado con el factor nuclear eritroide 2

nm: Nanómetros

O₂: Oxígeno

O₂⁻: Anión superóxido

• OH: Radical hidroxilo

OMS: Organización mundial de la salud

ROS: Especies reactivas de oxígeno

SII: Síndrome de intestino irritable

SOD: Superóxido dismutasa

TBA: Ácido tiobarbitúrico

TNF-α: Factor de necrosis tumoral alfa

U/mL: Unidades por mililitro

WST: Tetrazolio soluble en agua

Zn: Zinc

I. INTRODUCCIÓN

El presente estudio está dirigido al análisis de los efectos del estrés de origen académico sobre el sistema endógeno enzimático antioxidante de estudiantes universitarios del área de la salud debido a que se ha observado en esta población afectaciones en su bienestar físico y mental a consecuencia del estrés.

A lo largo de la vida de los seres vivos el estrés juega un papel importante, siendo la principal señal de alarma en el organismo que tiene como función activar los diferentes mecanismos metabólicos para garantizar la supervivencia; definido por la organización mundial de la salud (OMS, 2020) como “sentirse amenazado o preocupado por la vida” este concepto no solo se limita a una percepción psicológica si no a una serie de cambios en los sistemas de integración fisiológicos (Dhabhar, 2018; Rudland, 2020).

El estrés puede ser un estímulo percibido como amenaza el cual es integrado por el hipotálamo llevando a cabo la activación del sistema nervioso simpático y la liberación de adrenalina de la médula suprarrenal; por consecuencia, entra en función el sistema hipotálamo-pituitario-adrenal, el cual sintetiza y libera hormonas esteroides de la corteza suprarrenal como el cortisol la llamada hormona del estrés que tiene efectos en los órganos periféricos y en el cerebro causando impacto en el comportamiento humano (Spencer & Deak, 2017). Sus niveles varían durante el día presentando mayor concentración por las mañanas y disminuyendo en el transcurso del día, su aumento está asociado a factores estresantes ambientales y psicológicos (Liang et ál., 2020; Speer et ál., 2019). Este tipo de señal hormonal es llevado a cabo por la mayoría de las células del cuerpo para garantizar el rendimiento que el organismo demanda.

Los altos niveles de estrés están relacionados con diversos padecimientos patológicos derivados de las alteraciones en el organismo que van desde la afectación de los diferentes sistemas hasta el incorrecto funcionamiento celular. Una de las principales consecuencias a nivel celular es el desequilibrio molecular llamado estrés oxidativo (EO) caracterizado por la producción y la acumulación de especies reactivas de oxígeno también conocidas en inglés como oxygen reactive species (ROS) y una disminución en la actividad de los agentes antioxidantes (Tong & Wang, 2020; Costantini, 2019).

Las ROS en cantidades controladas llevan a cabo distintas funciones fisiológicas, una de las más importante es la señalización celular. Se originan normalmente como subproducto del metabolismo del oxígeno realizados por la mitocondria principalmente en la cadena transportadora de electrones; pero también los factores ambientales como rayos ultravioletas, radiaciones ionizantes, contaminantes y metales pesados y los xenobióticos contribuyen a aumentar en gran medida su producción provocando el desequilibrio molecular (Delgado-Roche & Mesta, 2020; Yaribeygi et ál., 2020).

Las células compensan el daño oxidativo mediante la acción de enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD), los tioles quienes son de vital importancia en las células ya que regulan muchos procesos mediante reacciones redox, así como antioxidantes exógenos en forma de vitaminas A, C y E (Betancur & Mosquera, 2017; Sivandzade et ál., 2019; Moldogazieva et ál., 2019). El análisis de la actividad enzimática antioxidante nos permite estimar el EO en el organismo.

La población estudiantil es uno de los grupos vulnerables al estrés, llamado en este caso EA debido a sus principales estresores los cuales son de origen escolar, se ha observado que son los estudiantes universitarios puntualmente los estudiantes de carreras relacionadas al área de la salud, y son aquellos los que se ven mayormente afectados a consecuencia de prolongadas horas de estudio, exámenes y carga académica en general, lo cual repercute en el bienestar físico y mental del estudiante; lo anterior es una motivación suficiente para llevar a cabo el presente estudio en el cual se determinó la actividad del sistema enzimático antioxidante en los estudiantes universitarios de Tijuana y determinar si el EA es un factor que favorece la aparición de altos niveles de EO.

II. ANTECEDENTES

II.I.I. Oxígeno y generación de ROS

El O₂ es el elemento diatómico que está presente en alrededor del 99 % en la atmosfera, su presencia es esencial para la vida, de la misma forma necesario para la mayoría de los procesos biológicos como la respiración celular y la generación de energía. La mitocondria es uno los sitios intracelulares encargados de la producción de la molécula energética adenosín trifosfato (ATP), que esencialmente necesita el consumo de oxígeno, es un organelo con membrana doble que desempeñan un papel dinámico y multifacético en la señalización y el metabolismo celular (Gutteridge & Halliwell, 2018; Pelster et ál., 2020).

La respiración mitocondrial está relacionada con la producción de especies reactivas, por ello las mitocondrias son los principales sitios de producción de ROS en la célula. Las ROS desempeñan funciones importantes como moléculas de señalización que regulan varios procesos celulares cruciales, como la autofagia, la inmunidad, la diferenciación y la respuesta a la hipoxia. La alteración de la homeostasis redox puede afectar importantes eventos de señalización, lo que puede resultar en daño celular, por lo que es necesario regular estrictamente la producción y eliminación de ROS (Thomas & Ashcroft 2019; Wu et ál., 2019). Es en la cadena transportadora de electrones mitocondrial donde se lleva a cabo la mayor generación de ROS que incluyen al anión superóxido (O₂⁻), peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y el radical hidroxilo ([•]OH). Esto ocurre a consecuencia de los electrones que se transfieren ocasionalmente al O₂, generando una molécula de O₂⁻ la cual si no es neutralizada da origen a otras ROS antes mencionadas (Yang et ál., 2019; Redman et ál., 2018). La generación de superóxidos ocurre en varios sitios, pero los complejos de la cadena transportadora de electrones son una fuente importante. Las tasas de producción de superóxidos mitocondriales están determinadas principalmente por el estado redox de los portadores de electrones (NADH /NAD⁺) y el gradiente de protones de la membrana mitocondrial interna como se muestra en la figura 1, (de Goede, 2018; Lee et ál., 2020).

Figura 1

Cadena transportadora de electrones mitocondrial.

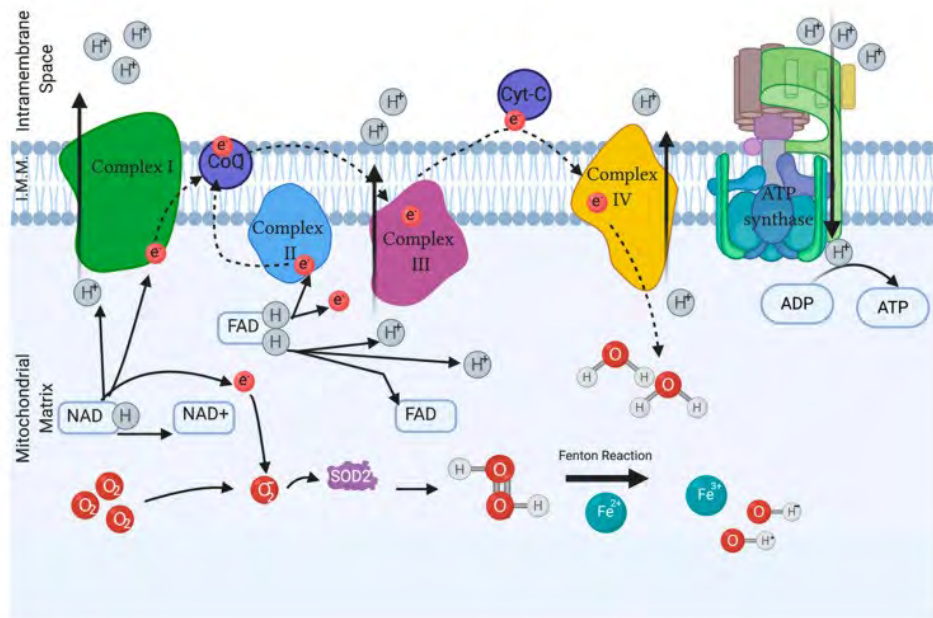


Diagrama de flujo de la generación de ROS durante la respiración celular impulsada por la cadena de transporte de electrones (ETC) en la mitocondria. Los complejos I, II, III y IV constituyen el ETC y la ATP sintasa completa la fosforilación oxidativa. La reacción de Fenton constituye la donación de un electrón para transformar H₂O₂ en dos moléculas de radical hidroxilo. Abreviaturas: ADP: difosfato de adenosina. ATP: trifosfato de adenosina. CoQ: coenzima Q, ubiquinona. Cyt-C: complejo de citocromo. FAD: FADH₂ forma reducida. FADH₂: Flavin adenina dinucleótido. Fe²⁺: Ión ferroso. Fe³⁺: Ión férrico. H: hidrógeno. IMM: membrana mitocondrial interna. NAD: forma reducida de NADH. NADH: dinucleótido de nicotinamida y adenina. O₂: Oxígeno. O₂⁻: superóxido. SOD2: superóxido dismutasa 2 (variedad mitocondrial); tomada de Torres-Arce et ál., 2021.

La alteración y la disminución en la homeostasis mitocondrial se ha vinculado con la aparición y desarrollo de diversas patologías relacionadas con la inflamación. Las mitocondrias han sido señaladas en diversas ocasiones como elementos fundamentales para desencadenar la inflamación y estimular las cascadas de señalización inmune innatas para intensificar la respuesta inflamatoria frente a diferentes estímulos (Herb & Schramm, 2021; Patergnani et ál., 2021).

Para contrarrestar los efectos nocivos de las ROS sobre las principales macromoléculas celulares como son las proteínas, los lípidos que se encuentran esencialmente en la membrana celular y los ácidos nucleicos, las células han desarrollado un sistema de

defensa equilibrado con la finalidad de eliminar las ROS y por consecuencia reducir el daño oxidativo celular (Pisoschi et ál., 2021; Tsikas, 2017).

II.I.II. Agentes antioxidantes

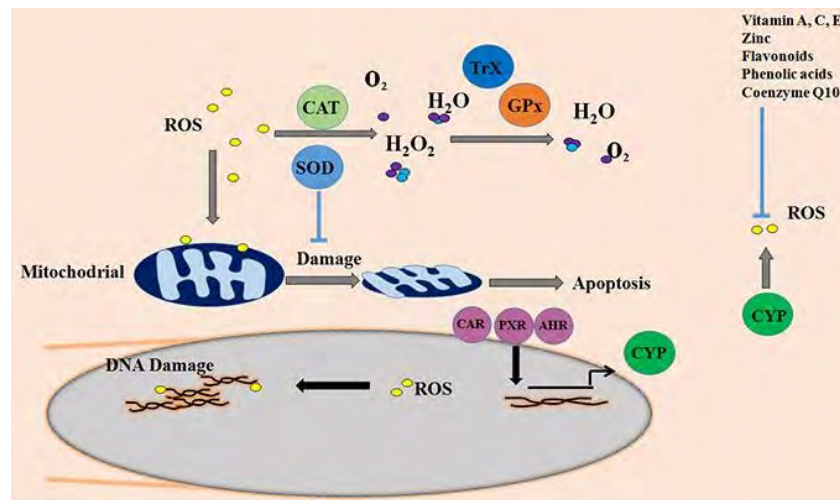
Los antioxidantes son la principal barrera contra las ROS, son compuestos que inhiben la oxidación de otras moléculas, son agentes que poseen la capacidad de ser donantes de hidrógeno o electrones ya que forman especies reactivas menores convirtiéndolos en radicales más estables o especies no radicales, un radical es una molécula inestable caracterizada por poseer electrones desapareados y son altamente reactivos (Di Meo & Venditti, 2020; He et al., 2017). Los antioxidantes se clasifican según su origen en dos tipos: antioxidantes exógenos y endógenos (Seyedsadjadi & Grant, 2020; Agarwal et ál, 2019). Los antioxidantes pueden ser compuestos naturales, enzimáticos y no enzimáticos; como la SOD, Tioles o compuestos aportados por nutrientes que se encuentran en alimentos como suplementos dietéticos tales como vitamina A, Vitamina C, tocoferoles, tocotrienoles, carotenoides y vitamina E (Griñan-Lison et ál., 2021; Daiber & Münzel, 2020; Gunawardena et ál., 2019).

Se cree que la producción de ROS en las mitocondrias tiene una participación importante en el proceso de envejecimiento celular, en la patogénesis de enfermedades metabólicas y neurodegenerativas. Experimentos recientes con ratones knockout demuestran claramente que la generación de ROS mitocondriales es un proceso fisiológicamente significativo in vivo y que la SOD mitocondrial es esencial para mantener la función normal de los órganos ricos en mitocondrias como el corazón, el cerebro y el hígado (Hernansanz-Agustín & Enríquez, 2021).

La SOD es señalada por los investigadores como uno de los mejores antioxidantes in vivo. Las SOD que se encuentran en humanos se pueden clasificar en: Cu, Zn-SOD citosólico, Mn-SOD mitocondrial y SOD extracelular. El SOD puede catalizar al $O_2^{\bullet-}$ en H_2O_2 ; mientras que la CAT y GST pueden neutralizar el H_2O_2 descomponiéndolo en O_2 y H_2O como se encuentran representados en la figura 2, (Agarwal et ál., 2019; He et ál., 2017; Sies, 2017).

Figura 2

Sistema enzimático antioxidante.



El sistema antioxidante consta de antioxidantes enzimáticos como superóxido dismutasa (SOD), así como antioxidantes no enzimáticos. Los antioxidantes enzimáticos pueden catalizar directa o indirectamente las ROS para proteger las células. Los antioxidantes no enzimáticos pueden neutralizar el efecto oxidativo promoviendo la enzima antioxidante o procesando directamente la reacción oxidativa en cadena. Tomada de He et ál., 2017.

Investigaciones realizadas sobre el consumo de antioxidantes de manera natural y suplementaria, sugieren que reducen la aparición de diferentes trastornos como: envejecimiento, cáncer, diabetes, inflamación, enfermedad hepática, enfermedad cardiovascular, cataratas, nefrotoxicidad y trastornos neurodegenerativos. Se cree que los antioxidantes dietéticos tienen capacidades potenciales para evitar enfermedades inducidas por daño oxidativo (Neha et ál., 2019; Tsikas, 2017). La evidencia señala que una dieta rica en antioxidantes fortalece las defensas del organismo ante los ataques de agentes oxidantes, por lo tanto, se han propuesto como medida terapéutica para contrarrestar los efectos de patologías asociadas al daño oxidativo (McGrattan et ál., 2019; Skrajnowska & Bobrowska-Korczak, 2019; Miller et ál., 2019).

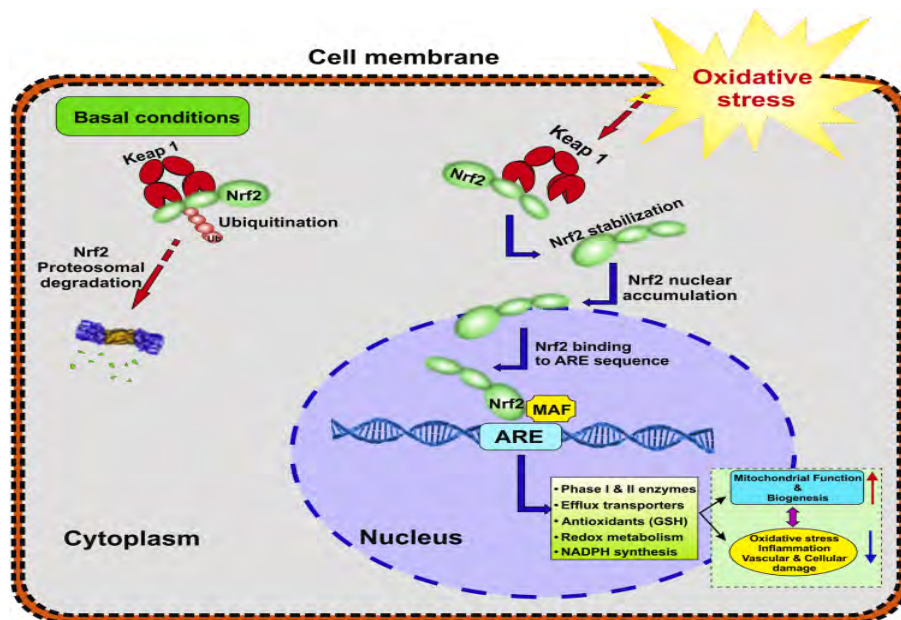
El sistema endógeno antioxidante involucra factores de transcripción que promueven la expresión de elementos antioxidantes y desintoxicantes para neutralizar los efectos del EO, así como las respuestas inflamatorias, el factor relacionado con el factor eritroide 2 nuclear (NRF2) y la unión del factor nuclear del gen de la cadena ligera k en las células

B (NF- κ B) promueven las respuestas celulares con la producción de citocinas y la supervivencia celular e inmunidad (Checa & Aran, 2020; Guo & Mo, 2020; Sivandzade et ál., 2019).

NRF2 se encuentra en el citoplasma a un nivel basal bajo, cuando los niveles de EO se elevan inicia una secuencia de respuestas biológicas, NRF2 puede controlar y mantener la expresión de los elementos de desintoxicación y respuesta antioxidante, pero también autorregularse, NRF2 es reconocido como regulador maestro de la homeostasis redox celular a continuación se muestra en la figura 3, (Kopacz et ál., 2020; Paladino, 2018; Bellezza et ál., 2018; Suzuki & Yamamoto, 2017).

Figura 3

NRF2 en condiciones basales y en presencia de EO.

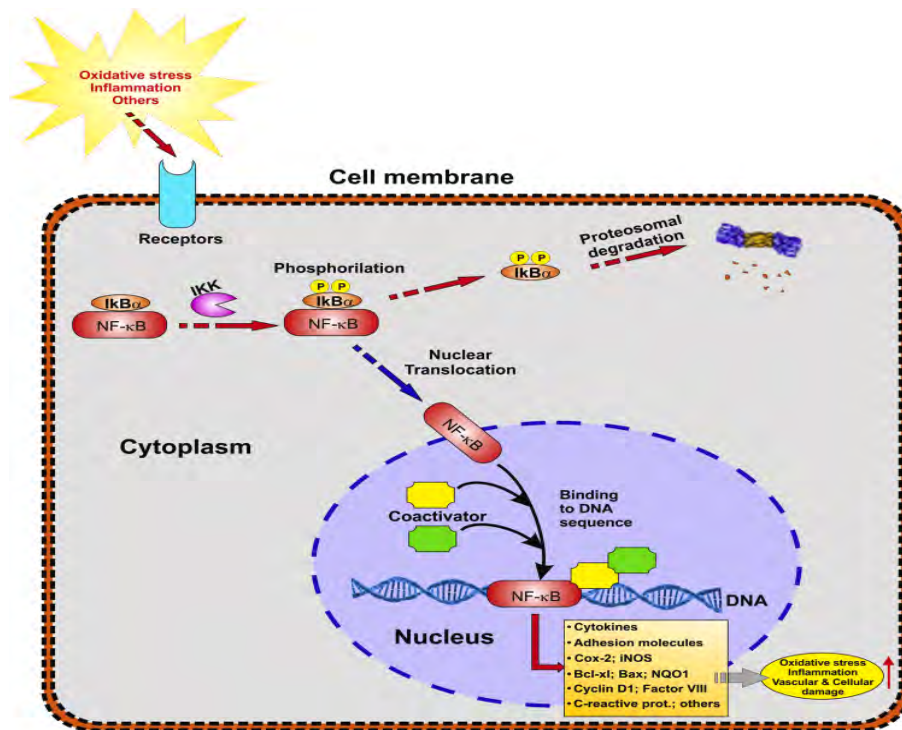


Regulación celular de NRF2 en condiciones celulares normales y estresadas: NRF2 es reconocido como regulador maestro de la homeostasis redox celular. En condiciones basales, NRF2 permanece unido a una proteína adaptadora KEAP1 y se mantiene a un nivel bajo en el citoplasma mediante ubiquitinación seguida de degradación proteosómica. En condiciones de estrés, NRF2 se libera de KEAP1 y luego se transloca y se acumula en el núcleo donde se une a la secuencia ARE (elemento regulador antioxidante). La activación de la vía NRF2-ARE desencadena la transcripción de múltiples genes implicados en la expresión de antioxidantes, transportadores de eflujo, enzimas de fase I y II, síntesis de glutatión y ATP, etc.) Tomado de Sivandzade et ál., 2019.

Por otra parte, el factor NF- κ B desempeña un papel protector en condiciones de EO al suprimir la acumulación de ROS. NF- κ B modula la expresión génica en diversos procesos celulares como la respuesta inmune innata, la embriogénesis, el desarrollo de órganos, la proliferación celular, la apoptosis y respuestas de estrés a una variedad de estímulos nocivos. La inhibición de la activación de NF- κ B da como resultado un aumento en la producción de ROS inducida por TNF α , peroxidación de lípidos y oxidación de proteínas como se muestra en la figura 4, (Nisr et ál., 2019; Moniruzzaman et ál., 2018; Lingappan, 2018).

Figura 4

Vía de regulación y señalización de NF- κ B en el estrés oxidativo.



Regulación celular de NF- κ B bajo condiciones celulares estresadas: NF- κ B es un factor de transcripción regulado redox, involucrado en la modulación de la inflamación, la función inmune, el crecimiento celular y la apoptosis. El estrés oxidativo puede provocar la activación de la I κ B quinasa (IKK) que fosforila al inhibidor de NF- κ B. El efecto resultante es la degradación proteasomal de I κ B mediada por poliubiquitinación y la liberación de NF- κ B, que migra al núcleo, se une con sus correspondientes elementos sensibles al ADN (la región κ del genoma) y con la ayuda coadyuvante de otros coactivadores promueve la transcripción de mediadores proinflamatorios. Tomado de Sivandzade et ál. 2019.

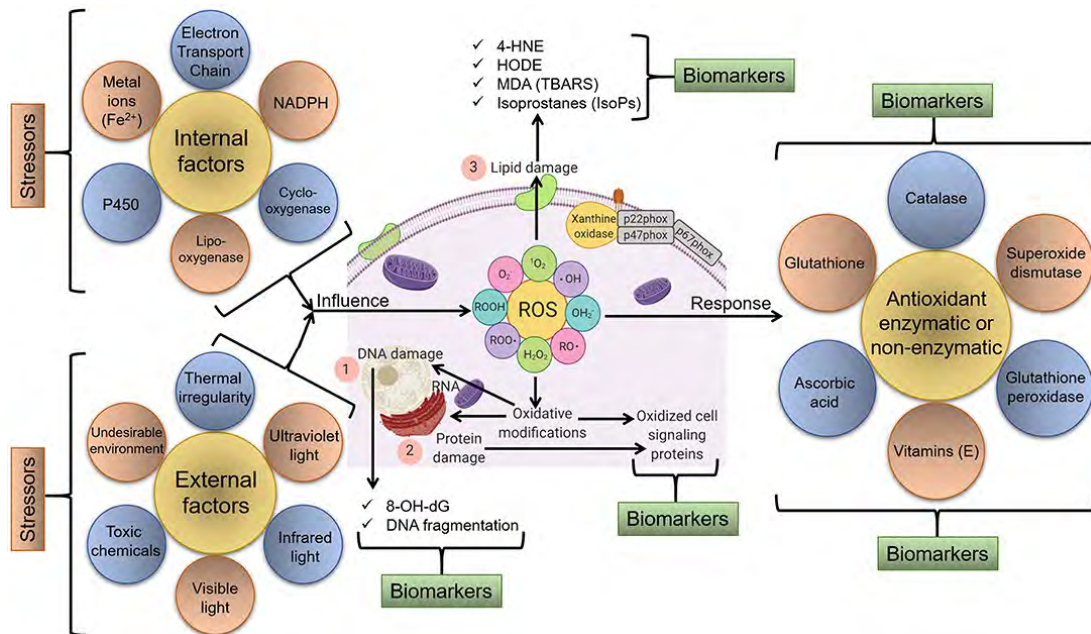
II.I.III. Estrés oxidativo

El desbalance entre el aumento de la producción de ROS y la disminución de la actividad de los agentes antioxidantes para neutralizar o eliminar a las especies reactivas da origen al EO, el cual está estrechamente relacionado con el desarrollo de patologías de carácter crónico-degenerativas y metabólicas como diabetes, obesidad, enfermedades cardiovasculares, artritis reumatoide, enfermedad renal, cáncer, etc. (Ryosuke, 2019) así también, se le relaciona con patologías de origen neurodegenerativo como esclerosis múltiple, Parkinson, Alzheimer, las cuales se presentan con un alto porcentaje en la población adulta debido a que las neuronas se ven afectadas en su estructura y función a consecuencia del daño oxidativo a las principales macromoléculas (Winiarska-Mieczan et ál., 2020; Carocci et ál., 2018; Umeno, 2017).

En diversos trabajos de investigación realizados acerca del daño oxidativo en el organismo, se han empleado la medición de los biomarcadores séricos específicos de EO; como la actividad de las enzimas antioxidante y las concentraciones de distintos subproductos resultado del daño a las diferentes estructuras celulares, como la presencia de MDA un producto que resulta de la peroxidación de los lípidos de la membrana celular, el cual funciona como una herramienta esencial para la determinación de la intensidad del proceso oxidante en el organismo. Los biomarcadores del EO son relevantes en la evaluación del estado de la enfermedad ya que reflejan distintos aspectos de la fisiopatología y de los efectos protectores de los antioxidantes como se muestra en la figura 5, (Marrocco et ál., 2017; islam et ál., 2019).

Figura 5

Factores estresores, generación de ROS y biomarcadores de EO.



Representación esquemática de varios factores endógenos y exógenos que actúan como factores estresantes y conducen a la generación de ROS y estrés/modificación oxidativa. En respuesta, comienzan varios procesos moleculares y celulares sensibles al redox que se pueden rastrear como biomarcadores de estrés oxidativo. Por ejemplo, los principales biomarcadores incluyen (1) marcadores de daño/oxidación de ADN/ARN, (2) marcadores de daño proteico/oxidación, y (3) marcadores de daño lipídico a través de la oxidación de componentes de membrana y lípidos disponibles, etc. Tomado de Dhama et ál., 2019.

II.I.IV. Estrés oxidativo y estrés psicosocial

Así también el EO ha sido fuertemente relacionado con enfermedades de origen psicológico, por lo cual, en los últimos años se han realizado una gran cantidad de estudios en personas de distintos sectores poblacionales que padecen enfermedades psicológicas, siendo el estrés psicológico uno de los principales temas más estudiado, debido a que este se asocia con concentraciones más altas de biomarcadores de EO (Suh et ál., 2019; Eick et ál., 2018).

Estudios anteriores realizados en población estudiantil, sobre la depresión y la ansiedad, dos de los trastornos mentales más comunes, también, fuertemente relacionados con el

estrés, que, además, están significativamente asociados con la regulación positiva de la inflamación sistémica indicada por una mayor producción de citocinas proinflamatorias y biomarcadores oxidativos. Sugieren que un estado inflamatorio elevado se acompaña de un mayor EO debido a alteraciones en el equilibrio redox, mayor generación de ROS, peroxidación de lípidos y disminución de las defensas antioxidantes asimismo concluyen que los síntomas de depresión y ansiedad parecen estar asociados con grados más altos de EO en poblaciones de estudiantes universitarios (Shafiee et ál., 2018; Ermakov et ál., 2021).

La evidencia señala que las personas con altos niveles de estrés se encuentran más expuestas a desarrollar enfermedades cardiometabólicas y una esperanza de vida significativamente reducida (Ghaemi & Michal, 2020). La corteza prefrontal cerebral es también junto con la amígdala una estructura cerebral importante para la cognición, la regulación de las emociones y el comportamiento (Yavas et ál., 2019; Wellman & Moench, 2019). La cascada de señales neuroquímicas inducida por la activación desadaptativa puede tener consecuencias duraderas en la inflamación vascular como aterosclerosis, cambios en la sensibilidad a la insulina y enfermedades cardiovasculares (Ceci et ál., 2020; Sagalajev et ál., 2018). Todos estos cambios originados en el organismo favorece la aparición de enfermedades relacionadas con la inflamación sistémica y por consecuencia crea el ambiente idóneo para el desarrollo del EO (Daiber & Münzel, 2020; Li & Xia, 2020).

La evaluación de los niveles de cortisol realizados en estudios anteriores ha contribuido al conocimiento del grado de estrés fisiológico en que se encuentra el organismo (Morera et ál., 2019; Zhu et ál., 2020) a pesar de su variabilidad y su corta vida media es uno de los biomarcadores mayormente utilizados para evaluar el estrés en animales y humanos, su aumento tanto como su disminución en el organismo contribuyen a diferentes estados metabólicos que se ven evidenciados en la salud los cuales pueden ser el reflejo de desórdenes endocrinos, hormonales, tumorales, psicológicos y conductuales (Boll et ál., 2020; Han et ál., 2020; Zhang et ál., 2020).

II.I.V. Estrés oxidativo y estrés académico

Un grupo poblacional fuertemente afectado por el estrés son los estudiantes universitarios del área médica. El llamado estrés académico nombrado así por su origen relacionado al ámbito escolar tiene graves consecuencias en la salud del estudiante (Abouammoh et al., 2020; Barker et ál., 2018). Estudios realizados en alumnos del área de la salud concuerdan en que el estrés está presente mayormente durante la formación universitaria, las constantes jornadas de estudio producen en el estudiante incapacidad para adaptarse a las demandas exigidas por el ámbito académico universitario (Atkinson, 2020; Dekker et ál., 2020; Enns et ál., 2018).

Para determinar las repercusiones que el EA tiene sobre el estudiante y su bienestar físico y mental, se utilizan diversas herramientas psicométricas con el fin de evaluar el entorno académico, familiar, medidas de afrontamiento a distintas situaciones, salud, hábitos alimenticios, actividades de esparcimiento, etc. La utilización de estos instrumentos refleja diversos panoramas y su influencia en el individuo, de acuerdo con el tema de interés evaluado.

Uno de los instrumentos para determinar el EA es el inventario de SISCO, el cual se empleó en un estudio realizado en estudiantes chilenos de medicina de primer y tercer año, se realizó un análisis factorial exploratorio para determinar la confiabilidad de cada una de las dimensiones del inventario por medio de alfa de Cronbach, se encontró que los factores estresantes y las dimensiones de somatización del inventario SISCO de estrés académico eran válidos y confiables (Castillo et ál., 2018).

Por otra parte, un estudio realizado en la universidad de Makerere en Uganda, en estudiantes de medicina, enfermería y odontología menciona que los principales periodos de estrés son en los primeros años de estudios de la carrera profesional y durante periodos específicos como exámenes, realización de trabajos finales o presentaciones orales (Amanya et ál., 2017).

Así también, se llevó acabo en la universidad de la ciudad de Guadalajara, México un estudio sobre la relación existente entre el síndrome de intestino irritable (SII) y el estrés académico en estudiantes de medicina, se obtuvo como resultado que los estudiantes

con mayor sobre carga académica y con falta de tiempo para el esparcimiento están en riesgo de desarrollar SII, por lo que se concluyó que los estudiantes que se encuentran bajo mayor EA están más propensos a desencadenar enfermedades (Pozos-Radillo et ál., 2018). En resumen, el estudiante universitario podría ser afectado y/o desarrollar patologías en una etapa temprana de su vida si no se maneja adecuadamente el EA.

Los estudiantes de medicina muestran un aumento de los niveles de estrés psicológico durante la formación profesional parecen ser particularmente vulnerables a esta situación. La formación médica está asociada a sobrecarga que podría tener un impacto en la calidad de la vida de los estudiantes durante el periodo de estudio. Además, los altos niveles de estrés pueden afectar la atención, el rendimiento académico ocasionando una disminución de la calidad de vida y salud del estudiante.

El cortisol, comúnmente conocida como "hormona del estrés", ya que participa en una gran variedad de funciones reguladoras: en el sistema nervioso central, es parte del proceso de aprendizaje, consolidación de la memoria, regulación de las emociones; en el sistema metabólico, regula el almacenamiento, la utilización de glucosa; en el sistema inmunológico, controla la extensión de las respuestas inflamatorias del cuerpo y la maduración de los linfocitos. En la mayoría de los estudios sobre el estrés relacionan el cortisol con factores estresantes, enfermedades, afecciones médicas y problemas de estilo de vida (Plumber et ál, 2021; Huhn et ál, 2018; Mayer et ál, 2018).

El estudio realizado en el Instituto de Psicología de la Universidad Jagellónica de Cracovia en estudiantes de edades entre 19-21, con el propósito de encontrar si había diferencia en la respuesta de despertar del cortisol entre un día neutral y un día de examen en un grupo de estudiantes y explorar las posibles relaciones, el afecto autoinformado y el rendimiento en el examen. Un grupo de 25 alumnas tomó muestras de su saliva utilizando Salivettes en el momento del despertar y después de 30 min. Posteriormente contestaban el instrumento psicométrico PANAS para evaluar sus emociones. Las medidas se tomaron dos veces: tres días antes de un examen y el día del examen. El nivel de cortisol libre en muestras de saliva se determinó mediante inmunoensayo enzimático. Como resultado se obtuvo que los niveles de cortisol fueron

significativamente mayor el día del examen que el día neutral (Losiak & Losiak-Pilch, 2020).

Es sabido que los estilos de vida saludable pueden ser beneficiosos para la salud. Por lo tanto, es primordial identificar opciones de estilo de vida saludables que promuevan el bienestar psicológico en estudiantes y reducir la aparición de padecimientos o patologías de manera prematura. Un estudio realizado en estudiantes alemanes y chinos, con el objetivo de evaluar de manera predictiva la salud mental de acuerdo con el estilo de vida del estudiante, las cuales iban desde la actividad física y mental, hasta el consumo de tabaco y alcohol, (datos obtenidos mediante diversos cuestionarios), revelaron resultados positivos en los estudiantes que tenían mayor actividades recreativas y menor consumo de alcohol, siendo los estudiantes alemanes con una mejor predicción de salud mental en relación con los estudiantes chinos. Lo anterior concluyo que la elección de un estilo de vida saludable mejora el bienestar psicológico en los estudiantes universitarios y por consecuencia reduce la aparición de trastornos relacionados con el estrés (Velten et ál., 2018).

II.II. JUSTIFICACIÓN

El estrés es un padecimiento que actualmente afecta a la población en general sin distinción alguna, debido al ritmo y estilo de vida; este puede somatizarse y repercutir en la salud del individuo (Yaribeygi, 2017). En la última década se han realizado diversas investigaciones que aseveran el estrés puede desencadenar una serie de patologías de carácter metabólico, las cuales favorecen el ambiente idóneo para el aumento del EO, al cual se le relaciona con enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares y cancerígenas con elevados índices de mortalidad en la población mundial (Anusruti, 2020; Di Meo, 2020).

Se ha observado en la comunidad estudiantil universitaria altos niveles de estrés, puntualmente en los estudiantes relacionados al área de la salud debido a las exigencias del ámbito académico que los mantiene bajo largas horas de estudio y un menor tiempo para la recreación llevándolos a padecer cambios conductuales que se reflejan en irritabilidad, dificultad para concentrarse, alteración del sueño, cambios en la alimentación, etc. El EA origina diversos cambios en aspectos psicosociales, fisiológicos y conductuales que pueden dar pauta a la aparición de patologías severas de manera precoz en la población estudiantil (Alzahrani et ál., 2020; Heinen, 2017).

En el presente estudio, se determinará mediante aplicación de pruebas psicométricas y valoración de los niveles de cortisol en el estudiante, el impacto que tiene el estrés de origen académico en el sistema de defensa enzimático antioxidante el cual se estimó mediante la medición de la actividad de SOD y determinación de tioles totales para con ello determinar la presencia de EO en los estudiantes universitarios.

II.III. OBJETIVO GENERAL

- Estimar los niveles de estrés oxidativo en estudiantes de medicina universitarios a través de la medición de la actividad enzimática antioxidante, valoración de los niveles de estrés académico y los niveles de cortisol para determinar si el estrés académico facilita el incremento de estrés oxidante en alumnos del área de la salud.

II.IV. OBJETIVOS PARTICULARES

- Medir actividad antioxidante en plasma humano, de la enzima superóxido dismutasa y tioles totales para estimar los niveles de estrés oxidativo.
- Analizar niveles de cortisol diurno en plasma para su asociación con los resultados de pruebas psicométricas.
- Conocer principales estresores y maneras de afrontamiento del alumno por medio de instrumento Inventario de SISCO de estrés académico.
- Interpretar datos de inventario de alimentos y vida cotidiana para conocer hábitos del alumno y afectaciones en la salud en los últimos meses.

II.V. HIPÓTESIS

- El estrés académico es un factor que favorece el desarrollo de altos niveles de estrés oxidativo en estudiantes de medicina universitarios.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

III.I. Sujetos de estudio

Se llevó a cabo un estudio analítico y descriptivo en un total de ochenta y uno alumnos que cursaban 2do, 3ro y 4to semestre de la carrera de Medicina en la Facultad de Medicina y Psicología de la Universidad Autónoma de Baja California, en Tijuana, B. C. México.

Criterios de inclusión

Estudiantes inscritos en la carrera de Medicina de la Facultad de Medicina y Psicología de la Universidad Autónoma de Baja California, con edades de 18-24 años que no manifiesten patologías metabólicas, neoplásicas, psicológicas o neurológicas.

Criterios de exclusión

Estudiantes que refieran enfermedades crónico-degenerativas como diabetes, hipertensión, hiper o hipotiroidismos, cáncer, asma, EPOC, artritis, etc.

Criterios de eliminación

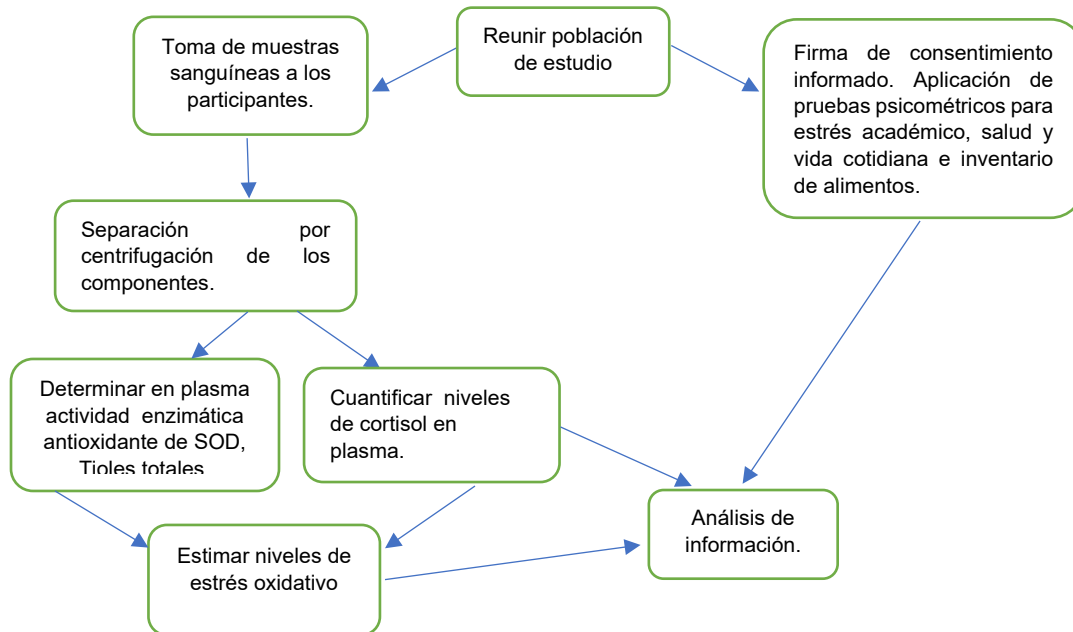
Se eliminarán aquellos participantes que no hayan firmado el consentimiento informado, que no cuenten con información completa en instrumentos psicométricos, muestras hemolizadas y foliadas incorrectamente.

III.II. Toma de muestras

Posterior a una breve descripción al estudiante sobre el desarrollo de las pruebas, objetivo del estudio y la firma del consentimiento informado se procedió a la toma de muestra que consistió en 4 mL en tubo con EDTA para obtener plasma. Se les pidió a los estudiantes que se presentaran en horario matutino de 8-10 am en ayunas; seguido de la toma de muestra inmediatamente se obtuvo plasma sanguíneo por centrifugación a 3500 rpm por 15 minutos, una vez obtenido el plasma se prosiguió con las técnicas especializadas para cada prueba, en la siguiente figura 6 se muestra brevemente la metodología a seguir.

Figura 6

Esquema de metodología empleada en el estudio.



Metodología para aplicación de instrumentos psicométricos y estimación de estrés oxidativo para su correlación.

III.III. Instrumentos psicométricos

Como instrumentos psicométricos se emplearon la prueba de inventario de alimentos, que, consta de una lista de 122 alimentos; donde el participante indica la frecuencia con la que consume estos alimentos marcando las siguientes categorías: diaria, semanal y mensualmente (Hernández & González, 2018).

Cuestionario de Salud y vida cotidiana forma B; en el cual se utilizó la primera sección que permite medir los índices de salud, que está dividida en 5 unidades:

- a) Enfermedades diagnosticadas por un médico: se enlistaron 14 enfermedades, donde el estudiante respondió de manera dicotómica, si padeció alguna de ellas en el último año.

- b) Uso de medicamentos: donde el participante indicó la frecuencia del uso durante el último año.
- c) Síntomas psicosomáticos: se presenta una lista de 14 diferentes síntomas, el participante indicó la frecuencia con la que se presentaron en el último año.
- d) Depresión: esta sección está compuesta por 22 reactivos y el estudiante señaló la frecuencia con la que experimentó cada situación en el último año.
- e) La última escala presenta 10 adjetivos, 6 para medir autoconfianza y 4 para disposición ante la vida, el estudiante debe indicar que tanto lo describe un adjetivo.

En las escalas de síntomas psicosomáticos y depresión, se utiliza una escala de 5 puntos donde 1= nunca, a 5= siempre. La escala de autoconfianza y disposición ante la vida también se utiliza una escala de 5 puntos donde 1= no me describe y 5= me describe exactamente (Moos et ál., 1986).

Inventario de SISCO de estrés académico, medido a través de una escala de tipo Likert de 5 puntos, de modo que el valor 1 indica «nunca» y el valor 5 «siempre». Éste fue validado en el 2007, obteniendo un nivel de fiabilidad de 0.874.

Cuenta con una pregunta inicial que en términos dicotómicos (sí-no) permite determinar si el escolar ha presentado o no preocupación o nerviosismo durante los últimos seis meses y, por lo tanto, si es candidato para contestar el inventario. Así mismo, cuenta con una sección en 8 ítems que permite identificar la frecuencia en la que las demandas en el contexto académico son un estímulo estresante y, además, 15 ítems que permiten identificar la frecuencia con que se presentan las reacciones físicas, psicológicas y comportamentales al estímulo estresante. Los puntajes de las escalas de SISCO fueron analizados a través de la mediana como medida de resumen y rango intercuartílico (RIQ) como medida de dispersión (Castillo, et ál., 2018; de La Rosa, et ál., 2015).

III.IV. Determinación de actividad de enzimas antioxidantes

Debido a su fácil empleo, alta sensibilidad y especificidad se determinó la actividad enzimática por medio de la técnica de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) in vitro que consiste en la medición cuantitativa de una proteína diana en muestras biológicas, como suero, plasma, cultivo celular sobrenadantes, orina y/o lisados de células y tejidos (Ardjmand, et ál., 2019; Tsang, 2019; Aydin, 2015).

III.IV.I. Superóxido dismutasa

Se calculó y determinó la actividad de SOD en plasma utilizando el kit Abcam con número de catálogo Ab65354, que consiste en la producción de aniones superóxido por la acción de la xantina oxidasa, la SOD cataliza la dismutación del anión superóxido en H_2O_2 y O_2 , los aniones superóxido actúan sobre sal de tetrazolio para producir el colorante formazán soluble en agua que puede ser detectado por el aumento de absorbancia. Cuanto mayor es la actividad de SOD en la muestra, menos colorante formazán se produce.

Los resultados se expresaron en unidades (U) por miligramo de proteína soluble (U/mL). Una unidad de actividad de SOD se define como la cantidad de enzima necesaria para inhibir el 50% de la máxima de O_2^- (Ardjmand, et ál., 2019; Aydin, 2015).

III.IV.II. Tioles totales

La determinación de compuestos tipo tiol se fundamenta en el uso de un reactivo cromogénico como el ácido 5,5'-Ditiobis-(2- nitrobenzoico) (DTNB), mejor conocido como el reactivo de Ellman's. Este compuesto posee un enlace bisulfito, mediante el cual se lleva a cabo la reducción de los tioles libres; en una reacción de intercambio. De estas interacciones químicas se obtiene como producto final de reacción el cromógeno ácido 5-Tio-2-nitobenzoico (TNB), el cual se analiza colorimétricamente en lector de microplaca a 412 nm. La concentración de tioles totales se expresa en nmol/mg de proteína (Winther & Thorpe, 2014; Erel & Erdoğan, 2020).

III.IV.III. Cuantificación de proteínas

La cuantificación de proteínas se realizó con el kit Pierce BCA Protein Assay Kit de thermoscientific con número de catálogo 23225 and 23227. El kit está basado en el ácido bicinconínico (BCA) para la detección y cuantificación colorimétrica de proteínas totales. Este método combina la reducción del Cu^{+2} a Cu^{+1} en medio alcalino (reacción de Biuret) con la detección selectiva del catión Cu^{+1} utilizando el ácido bicinconínico. El producto de la reacción tiene un color púrpura formado por el complejo de BCA con un ion Cu^{+1} . Su medición es 562 nm en lector de microplaca.

La concentración de proteínas se determina a partir de una curva estándar con albúmina sérica bovina a concentración conocida. A partir de esta curva se determina la concentración de la muestra de proteína incógnita (Roberts et ál, 2002; Adilakshami & Laine, 2002).

III.IV.IV. Determinación de niveles de cortisol

Los niveles de cortisol se determinaron con el kit de ELISA competitivo de cortisol humano de Invitrogen con número de catálogo EIAHCOR, la cual consiste en un patrón de cortisol para generar una curva estándar para el ensayo y todas las muestras se leen frente a la curva estándar generada. La absorbancia se realiza con un lector de placas de microtitulación a 450 nm. Los niveles séricos de cortisol se expresarán en mg/L (Stegers-Jager, et ál., 2020; Conchado, et ál., 2018).

Para llevar a cabo el ensayo se preparó un buffer de lavado 1X con una dilución de 15 mL de concentrado de solución de lavado (20X) + 285 mL con dH_2O y se etiqueto como 1X buffer de lavado. También se preparó un buffer de ensayo 1X con una dilución de 14 mL de buffer ensayo (5X) + 56 mL dH_2O el cual se etiqueto como 1X buffer de ensayo.

La preparación de la muestra consistió en 5 μL de plasma en un tubo de ensayo junto con 5 μL de reactivo de disociación previamente calentado a temperatura ambiente, se mezcló con vórtex cuidadosamente y se dejó incubar a temperatura ambiente por 5 min, se añadieron 490 μL de 1X Assay buffer para preparar una dilución de 1:100 de la muestra, resultando 500 μL finales.

Para la solución estándar se emplearon tubos de ensayo de cristal, inicialmente se añadió 50 µL de estándar de cortisol en un tubo con 450 µL de 1X buffer de ensayo y se etiquetó como 3,200 pg/mL de cortisol, posteriormente se añadieron 250 µL de 1X Assay buffer para cada tubo en 7 tubos y se etiquetaron de la siguiente manera: 1,600; 800; 400; 200; 100; 50 y 0 pg/mL de cortisol.

Para la unión del antígeno en una placa de 96 pocillos en la cual se eligieron 8 pocillos para llevar a cabo el ensayo, se emplearon 50 µL de muestra + 75 µL de 1X de buffer de ensayo + 25 µL de conjugado de cortisol + 25 µL de anticuerpo de cortisol, se mezclaron los componentes y se incubaron a temperatura ambiente por 1 hora con la placa cubierta, al término del tiempo de incubación se lavó la placa 4 veces con 300 µL de 1X de buffer de lavado seguido se añadió el cromógeno 100 µL de sustrato de TMB a cada pozo, se incubó a temperatura ambiente por 30 min. Por último se añadieron 50 µL de solución de parada a cada pozo seleccionado, mezclando suavemente, la solución toma una coloración amarilla la cual es leída después de 10 min a 450 nm en lector de microplaca, los resultados se expresan µg/dL de cortisol presente en la muestra.

V. RESULTADOS

A continuación, se muestran los datos generales y antropométricos de los estudiantes participantes, alumnos inscritos en la carrera de Medicina de la facultad de medicina y Psicología de la UABC, que cursan el segundo, tercero y cuarto semestre, con un total de $n=81$ participantes de entre 18 y 24 años, donde el 63% son participantes femeninas y el 37% son estudiantes masculinos. Con talla y peso promedio $19.27 (\pm 8)$, $67.5 (\pm 18.5)$ respectivamente, con un índice de masa corporal de $24.32 (\pm 6.4)$ lo cual se encuentra dentro de los rangos saludables como se visualiza en las Tablas 1 y 2.

Tabla 1. Datos generales de los estudiantes de medicina participantes

<i>Semestre</i>	<i>Femenino</i>	<i>Masculino</i>	<i>N=81</i>
2do.	19	2	21
3ro.	26	23	48
4to.	6	5	11
% de participación	63 %	37%	100%

Tabla 2. Medidas antropométricas de los estudiantes

<i>Parámetros</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	<i>Media</i>	<i>D.E.</i>
Edad	18	24	19.27	± 1.0
Talla (cm)	146	181	166.7	± 8.0
Peso (Kg)	46	169.5	67.5	± 18.5
IMC (kg/cm^2)	15.81	39.96	24.32	± 6.4

En la tabla número 3, se expresan las medidas generales de las determinaciones realizadas, posteriormente se analizarán individualmente y correlacionaran según lo convenido, los niveles de cortisol se encuentran con una media de 21.4 (5.81) se mantienen dentro de los parámetros bajos de estrés siendo que el 91.3% de los

participantes refirieron estar estresados en diferente nivel, los cuales se analizarán posteriormente.

Tabla 3. Medidas generales de las determinaciones

Parámetros	Media	Desviación Estándar	Coefficiente de variación
Tioles (nM/mg)	83.57	±24.61	0.29
SOD (U/mg)	209.61	±319.20	1.51
Cortisol (µg/dL)	21.44	±5.81	0.27
BCA (µg/mL)	281.61	±71.78	0.25

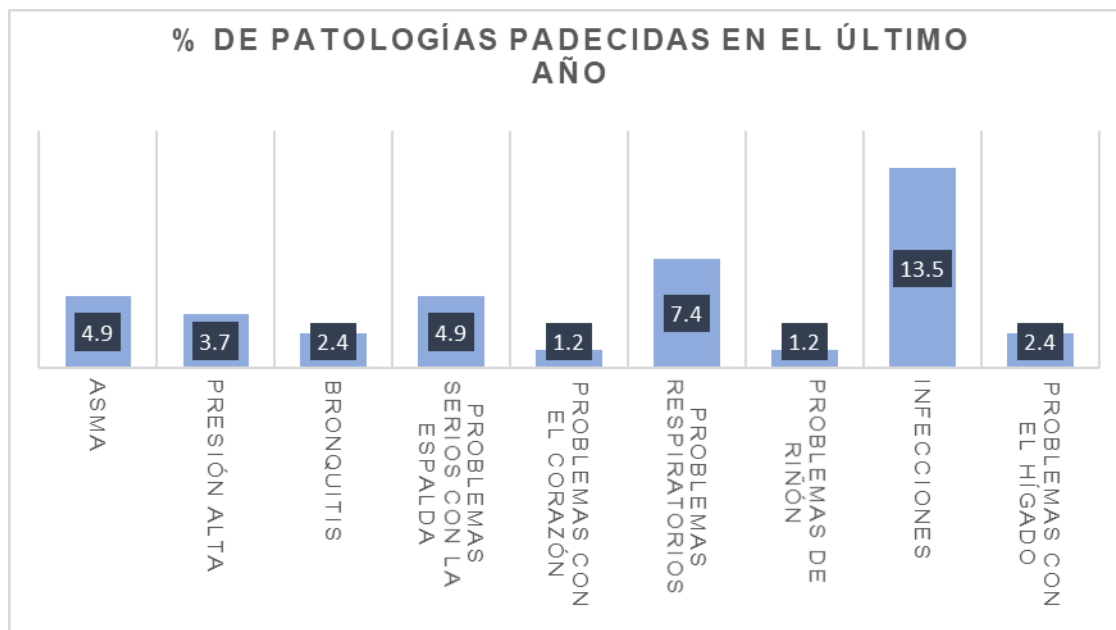
Los alimentos mayormente consumidos por los alumnos, los cuales solo se tomaron en cuenta las respuestas marcadas que señalan que el consumo se realiza diariamente, tabla 4, los cuales son huevos y leche de vaca con un 55%, la fruta mayormente consumida es el plátano con 29.6% y la proteína animal con mayor consumo por los estudiantes es la del pollo con 19.7%; por otra parte, la proteína animal menos consumida es la carne de pavo con un 44.4%, los frutos rojo como las ciruelas y las cerezas con un 53% y 49% respectivamente.

Tabla 4. Porcentaje de alimentos mayor y menormente consumidos por los estudiantes

Alimentos Mayormente consumidos	%	Alimentos menormente consumidos	%
huevos	55.5	ciruela	53.0
leche de vaca	55.5	donas	53.0
tortillas	51.8	lasaña	51.8
tomate	37.0	cereza	49.3
cereales	35.8	helado	49.3
arroz	30.8	tamal	49.3
plátano	29.6	espárragos	43.2
jitomate	28.3	Ciruela pasa	48.1
manzana	23.4	pay	46.9
pollo	19.7	pavo	44.4

En cuanto a la frecuencia de los problemas de salud que afectaron a los estudiantes en el último año es muy baja, en general refirieron gozar de buena salud durante este periodo, las molestias más constantes fueron de carácter infeccioso con el 13.5% seguida de los problemas respiratorios con 7.4%, como se muestra en la figura 7.

Figura 7. Patologías padecidas en el último año, referidas por los estudiantes.



Los medicamentos que fueron utilizados con mayor frecuencia por los universitarios durante este último año fueron las vitaminas con un 6.1% seguido de los analgésicos y antihistamínicos con un 2.4% para ambos medicamentos (figura 8), lo que refleja un mínimo uso de sustancias en el periodo. Mientras que el síntoma referido con gran continuidad fue la falta de sueño con 7.4% posteriormente seguido de la presencia de dolor en alguna parte del cuerpo y la falta de apetito con el 3.7% para los dos casos como se muestra en la figura 9.

Figura 8. Porcentaje de medicamentos utilizados en el último año por los alumnos participantes

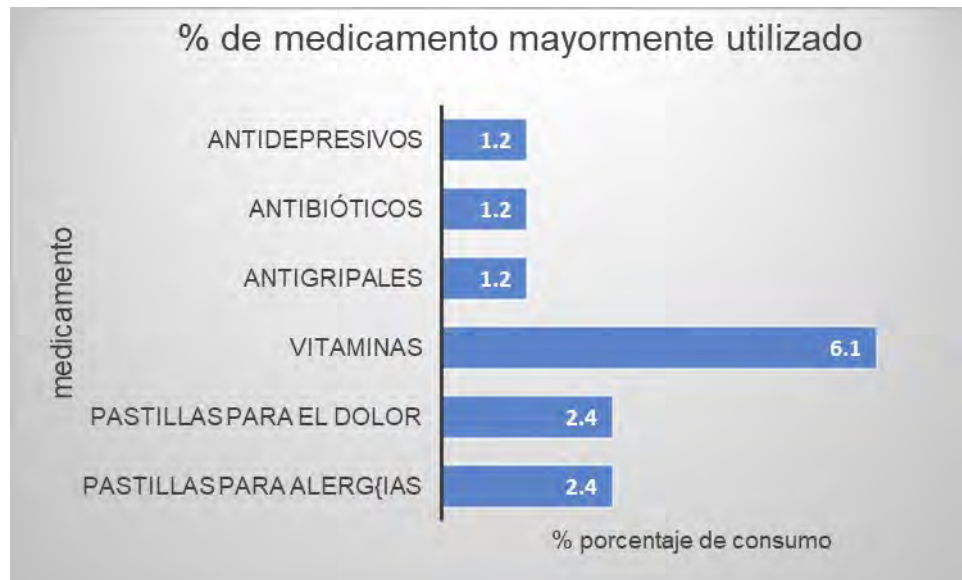
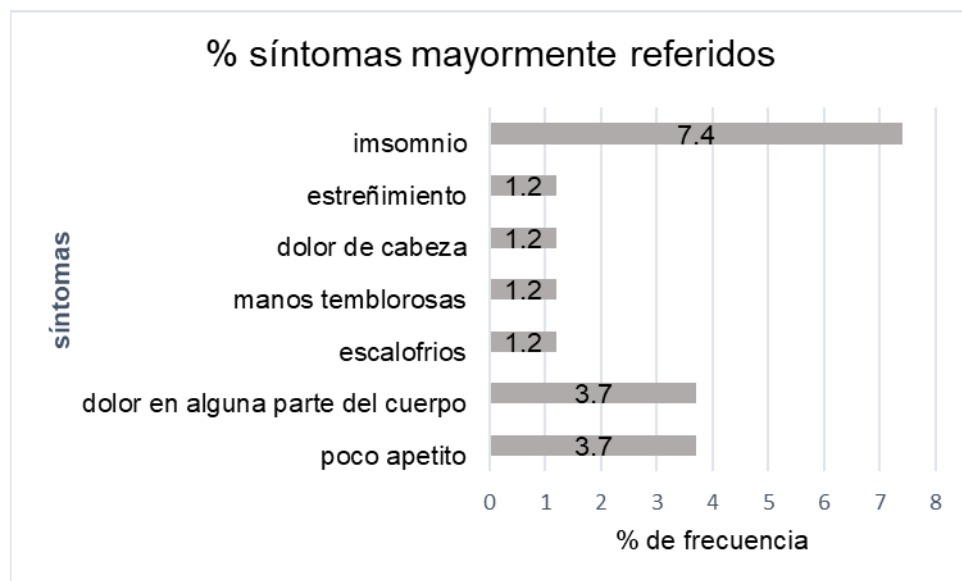


Figura 9. Porcentaje de frecuencia de síntomas referidos por los estudiantes



Del total de los participantes $n=81$, 74 (91.4%) refirieron sentir preocupación o nerviosismo durante los últimos meses y solo 7 (8.60) de ellos mencionaron no sentir ninguna de estas situaciones como se ve reflejada en la figura 10, la cual muestra el porcentaje de respuesta a la primera respuesta dicotómica del inventario de SISCO del

estrés académico. Por lo tanto, en la figura 11, se señala el nivel o intensidad de estrés percibido por el estudiante en una escala del 1-5 la cual refleja que la mayoría describe un estrés entre medio y moderado.

Figura 10. Porcentaje de frecuencia a expresar estrés académico, mediante inventario de SISCO

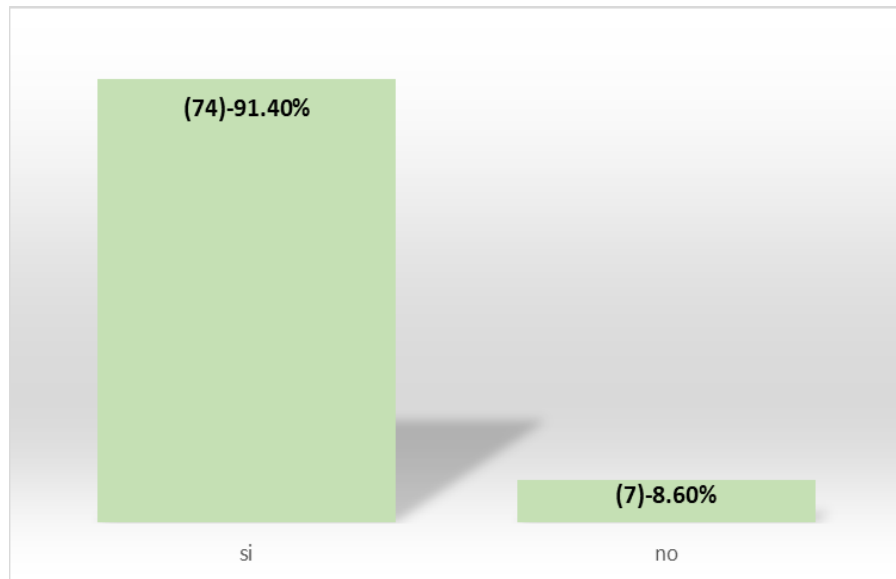


Figura 11. Porcentaje de frecuencia al nivel de estrés académico mediante inventario de SISCO.



Se calcularon los valores de los participantes con mayores niveles de cortisol con respecto a sus demás compañeros los cuales representaban una mínima parte y con niveles de estrés percibido considerado medio a moderado, con una buena respuesta de la actividad de SOD al igual que la concentración de tioles; lo que indica que no hay diferencia significativa entre los compañeros que refirieron estar estresados y niveles altos de cortisol vs con los alumnos que mostraron niveles dentro de lo normal de cortisol, datos mostrados en las tablas 5 y 6.

Tabla 5. Determinaciones de estudiantes con niveles de estrés académico percibido medio, cortisol elevados y su relación con los demás parámetros medidos.

<i>Parámetros</i>	<i>Media</i>	<i>DE</i>	<i>Coeficiente de variación</i>
<i>Cortisol ($\mu\text{g/dL}$)</i>	29.18	6.42	0.22
<i>SOD (U/mg)</i>	314.25	570.77	1.82
<i>Tioles (nM/mg)</i>	62.53	35.28	0.56

Media, DE, CV medidos por ANOVA con IC 95%

Tabla 6. Determinaciones de estudiantes con niveles de estrés académico bajo percibido, niveles de cortisol, y los demás parámetros.

<i>Parámetros</i>	<i>Media</i>	<i>ED</i>	<i>Coeficiente de variación</i>
<i>Cortisol ($\mu\text{g/dL}$)</i>	19.89	2.70	0.14
<i>SOD (U/mg)</i>	241.53	337.22	1.40
<i>Tioles (nM/mg)</i>	81.78	42.11	0.51

Media, DE, CV medidos por ANOVA con IC 95%

VI. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos de la presente investigación concuerdan con los hallazgos anteriores en estudios previos, los cuales apoyan la teoría sobre que los estudiantes universitarios de medicina se encuentran sujetos a altos niveles de estrés académico durante su formación (Abouammoh et ál, 2020; Amany et ál, 2017).

De acuerdo con lo obtenido en este estudio son los estudiantes femeninos los que presentan mayor estrés, afirmando lo mencionado por Admi et ál, 2018 quien sugiere que son las estudiantes femeninas quienes presentan mayor EA durante su formación, si bien en el presente estudio la mayor participación fue por el género femenino el cual conforma la mayor parte del alumnado en general de los 3 grados de estudio evaluados, por otra parte, Crack & Doyle-Baker, 2020 menciona que el género femenino afronta de mejor manera el estrés con respecto a los masculinos.

No se encontraron diferencias significativas sobre la actividad enzimática antioxidante, entre los estudiantes masculinos y femeninos, sin embargo, en el grupo de los varones se registran ligeramente menores niveles de cortisol y estrés percibido, pero, existen diferencias mínimas con respecto a las mujeres, lo cual puede apoyar lo sugerido por diversos autores como Jiang et ál, 2018, señalan que a una mayor situación de estrés psicológico y fisiológico aumenta la actividad antioxidante para mantener la homeostasis redox, lo que habla del buen funcionamiento del sistema antioxidante bajo situaciones de estrés, cabe mencionar que los alumnos presentaron en general buenos hábitos alimenticios lo que puede sugerir fortalece la respuesta antioxidante, como se menciona en diversas investigaciones (Szabo et ál., 2021; Armon-Omer et ál., 2019; Lourenço et ál, 2019; Xu et ál, 2017; Román et ál, 2016).

En general no se reflejó diferencias significativas sobre los niveles de estrés percibido, por semestre y género, tampoco en los niveles de cortisol junto con las demás determinaciones, ya que fueron semejantes con el grupo más estresado y el grupo menos estresado, esto puede deberse a diferentes factores como la permanencia en casa, no

asistir a clases presenciales, mejor alimentación, descanso e implementación de estrategias para afrontamiento del estrés efectivas.

VII. CONCLUSIÓN

Los estudiantes universitarios de medicina se encuentran mayormente estresados durante su formación profesional; un análisis comparativo de las variables biológicas y psicométricas refleja que el grupo de estudiantes mayores están más estresados ya que sus niveles de estrés oxidativo y los niveles de estrés académico son relativamente más altos. Los estudiantes luchan constantemente por lograr estrategias saludables para hacer frente al estrés. Existe una gran necesidad de programas de manejo del estrés para ayudar a fomentar las habilidades de afrontamiento de los estudiantes.

V. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abouammoh, N., Irfan, F., & AlFaris, E. (2020). Stress coping strategies among medical students and trainees in Saudi Arabia: a qualitative study. *BMC medical education*, 20(1), 124. <https://doi.org/10.1186/s12909-020-02039-y>
- Adilakshmi, T., & Laine, R. O. (2002). Ribosomal protein S25 mRNA partners with MTF-1 and La to provide a p53-mediated mechanism for survival or death. *The Journal of biological chemistry*, 277(6), 4147–4151. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109785200>
- Agarwal, P., Bagewadi, A., Keluskar, V., & Vinuth, D. P. (2019). Superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase antioxidant enzymes in chronic tobacco smokers and chewers: A case-control study. *Indian journal of dental research: official publication of Indian Society for Dental Research*, 30(2), 219–225. https://doi.org/10.4103/ijdr.IJDR_268_12
- Alzahrani, A. M., Hakami, A., AlHadi, A., Batais, M. A., Alrasheed, A. A., & Almigbal, T. H. (2020). The interplay between mindfulness, depression, stress and academic performance in medical students: A Saudi perspective. *PloS one*, 15(4), e0231088. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231088>
- Ardjmand, A., Shahaboddin, M. E., Mazoochi, T., & Ghavipanjeh, G. (2019). Ameliorative effects of cerebrolysin against isoproterenol-induced myocardial injury in male rats. *Life sciences*, 227, 187–192. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.04.056>
- Amanya, S. B., Nakitende, J., & Ngabirano, T. D. (2017). A cross-sectional study of stress and its sources among health professional students at Makerere University, Uganda. *Nursing open*, 5(1), 70–76. <https://doi.org/10.1002/nop2.113>
- Anusruti A., X. Y. (2020). Factors associated with high oxidative stress in patients with type 2 diabetes: a meta- analysis of two cohort studies. *BMJ Open Diabetes Research & Care*, 14.
- Atkinson S. R. (2020). Elevated psychological distress in undergraduate and graduate entry students entering first year medical school. *PloS one*, 15(8), e0237008. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237008>
- Aydin S. (2015). A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. *Peptides*, 72, 4–15. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2015.04.012>
- Barker, E. T., Howard, A. L., Villemare-Krajden, R., & Galambos, N. L. (2018). The Rise and Fall of Depressive Symptoms and Academic Stress in Two Samples of University Students. *Journal of youth and adolescence*, 47(6), 1252–1266. <https://doi.org/10.1007/s10964-018-0822-9>

- Bellezza, I., Giambanco, I., Minelli, A., & Donato, R. (2018). Nrf2-Keap1 signaling in oxidative and reductive stress. *Biochimica et biophysica acta. Molecular cell research*, 1865(5), 721–733. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2018.02.010>
- Betancur, L. & Mosquera O.(2017). Quantification of free thiols and superoxide dismutase (sod) in methanolic plant extracts from the families asteraceae, euphorbiaceae and piperaceae. *Revista Facultad Ciencias Básicas*. 13 (2), 117-122. <http://dx.doi.org/10.18359/rfcb.2748>
- Boll, L. M., Khamirchi, R., Alonso, L., Llurba, E., Pozo, Ó. J., Miri, M., & Dadvand, P. (2020). Prenatal greenspace exposure and cord blood cortisol levels: A cross-sectional study in a middle-income country. *Environment international*, 144, 106047. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106047>
- Carocci, A., Catalano, A., Sinicropi, M. S., & Genchi, G. (2018). Oxidative stress and neurodegeneration: the involvement of iron. *Biometals : an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine*, 31(5), 715–735. <https://doi.org/10.1007/s10534-018-0126-2>
- Castillo, A. G., Saez, K., Pérez, C., & Castillo Navarrete, J. L. (2018). Validity and reliability of SISCO inventory of academic stress among health students in Chile. *JPMA. The Journal of the Pakistan Medical Association*, 68(12), 1759–1762.
- Ceci, F. M., Ferraguti, G., Petrella, C., Greco, A., Tirassa, P., Iannitelli, A., Ralli, M., Vitali, M., Ceccanti, M., Chaldakov, G. N., Versacci, P., & Fiore, M. (2020). Nerve Growth Factor, Stress and Diseases. *Current medicinal chemistry*, 10.2174/0929867327999200818111654. Advance online publication. <https://doi.org/10.2174/0929867327999200818111654>
- Checa, J., & Aran, J. M. (2020). Reactive Oxygen Species: Drivers of Physiological and Pathological Processes. *Journal of inflammation research*, 13, 1057–1073. <https://doi.org/10.2147/JIR.S275595>
- Conchado, J., Álvarez, R., Cordero, G., Gutiérrez, F., Terán, F., (2018). Estrés académico y valores de cortisol en estudiantes de medicina. *Revista Científica y Tecnológica UPSE*, 5 (1), 77-82. DOI: 10.26423/rctu.v5i1.322
- Costantini D. (2019). Understanding diversity in oxidative status and oxidative stress: the opportunities and challenges ahead. *The Journal of experimental biology*, 222(Pt 13), jeb194688. <https://doi.org/10.1242/jeb.194688>
- Daiber, A., & Münzel, T. (2020). Special Issue "Impact of environmental pollution and stress on redox signaling and oxidative stress pathways". *Redox biology*, 37, 101621. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101621>
- Dekker, I., De Jong, E. M., Schippers, M. C., De Bruijn-Smolters, M., Alexiou, A., & Giesbers, B. (2020). Optimizing Students' Mental Health and Academic

- Performance: AI-Enhanced Life Crafting. *Frontiers in psychology*, 11, 1063. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2020.01063>
- de Goede, P., Wefers, J., Brombacher, E. C., Schrauwen, P., & Kalsbeek, A. (2018). Circadian rhythms in mitochondrial respiration. *Journal of molecular endocrinology*, 60(3), R115–R130. <https://doi.org/10.1530/JME-17-0196>
- de La Rosa-Rojas, G., Chang-Grozo, S., Delgado-Flores, L., Oliveros-Lijap, L., Murillo-Pérez, D., Ortiz-Lozada, R., Vela-Ulloa, G., & Yhuri Carreazo, N. (2015). Niveles de estrés y formas de afrontamiento en estudiantes de Medicina en comparación con estudiantes de otras escuelas [Level of stress and coping strategy in medical students compared with students of other careers]. *Gaceta medica de México*, 151(4), 443–449.
- Delgado-Roche, L., & Mesta, F. (2020). Oxidative Stress as Key Player in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus (SARS-CoV) Infection. *Archives of medical research*, 51(5), 384–387. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.04.019>
- Dhabhar F. S. (2018). The short-term stress response - Mother nature's mechanism for enhancing protection and performance under conditions of threat, challenge, and opportunity. *Frontiers in neuroendocrinology*, 49, 175–192. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2018.03.004>
- Dhama K, Latheef SK, Dadar M, Samad HA, Munjal A, Khandia R, Karthik K, Tiwari R, Yatoo MI, Bhatt P, Chakraborty S, Singh KP, Iqbal HMN, Chaicumpa W and Joshi SK (2019). Biomarkers in Stress Related Diseases/Disorders: Diagnostic, Prognostic, and Therapeutic Values. [Figura 5]. *Front. Mol. Biosci.* 6:91. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2019.00091>
- Di Meo, F., Valentino, A., Petillo, O., Peluso, G., Filosa, S., & Crispi, S. (2020). Bioactive Polyphenols and Neuromodulation: Molecular Mechanisms in Neurodegeneration. *International journal of molecular sciences*, 21(7), 2564. <https://doi.org/10.3390/ijms21072564>
- Di Meo, S., & Venditti, P. (2020). Evolution of the Knowledge of Free Radicals and Other Oxidants. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2020, 9829176. <https://doi.org/10.1155/2020/9829176>
- [Doing what matters in times of stress: an illustrated guide]. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2020. Licencia: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/336218/9789240009561-spa.pdf>
- Eick, S. M., Barrett, E. S., van 't Erve, T. J., Nguyen, R., Bush, N. R., Milne, G., Swan, S. H., & Ferguson, K. K. (2018). Association between prenatal psychological stress and oxidative stress during pregnancy. *Paediatric and perinatal epidemiology*, 32(4), 318–326. <https://doi.org/10.1111/ppe.12465>

- Enns, A., Eldridge, G. D., Montgomery, C., & Gonzalez, V. M. (2018). Perceived stress, coping strategies, and emotional intelligence: A cross-sectional study of university students in helping disciplines. *Nurse education today*, 68, 226–231. <https://doi.org/10.1016/j.nedt.2018.06.012>
- Erel, Ö., & Erdoğan, S. (2020). Thiol-disulfide homeostasis: an integrated approach with biochemical and clinical aspects. *Turkish journal of medical sciences*, 50(SI-2), 1728–1738. <https://doi.org/10.3906/sag-2003-64>
- Ermakov, E. A., Dmitrieva, E. M., Parshukova, D. A., Kazantseva, D. V., Vasilieva, A. R., & Smirnova, L. P. (2021). Oxidative Stress-Related Mechanisms in Schizophrenia Pathogenesis and New Treatment Perspectives. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2021, 8881770. <https://doi.org/10.1155/2021/8881770>
- Fonseca, T. G., Carriço, T., Fernandes, E., Abessa, D., Tavares, A., & Bebianno, M. J. (2019). Impacts of in vivo and in vitro exposures to tamoxifen: Comparative effects on human cells and marine organisms. *Environment international*, 129, 256–272. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.05.014>
- Ghaemi Kerahrodi, J., & Michal, M. (2020). The fear-defense system, emotions, and oxidative stress. *Redox biology*, 37, 101588. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101588>
- Griñan-Lison, C., Blaya-Cánovas, J. L., López-Tejada, A., Ávalos-Moreno, M., Navarro-Ocón, A., Cara, F. E., González-González, A., Lorente, J. A., Marchal, J. A., & Granados-Principal, S. (2021). Antioxidants for the Treatment of Breast Cancer: Are We There Yet?. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 10(2), 205. <https://doi.org/10.3390/antiox10020205>
- Gunawardena, H. P., Silva, R., Sivakanesan, R., Ranasinghe, P., & Katulanda, P. (2019). Poor Glycaemic Control Is Associated with Increased Lipid Peroxidation and Glutathione Peroxidase Activity in Type 2 Diabetes Patients. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019, 9471697. <https://doi.org/10.1155/2019/9471697>
- Guo, Z., & Mo, Z. (2020). Keap1-Nrf2 signaling pathway in angiogenesis and vascular diseases. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, 14(6), 869–883. <https://doi.org/10.1002/term.3053>
- Gutteridge, J., & Halliwell, B. (2018). Mini-Review: Oxidative stress, redox stress or redox success?. *Biochemical and biophysical research communications*, 502(2), 183–186. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.05.045>
- Han, Y., Ji, H., Liu, L., Zhu, Y., & Jiang, X. (2020). The Relationship of Functional Status of Cortisol, Testosterone, and Parameters of Metabolic Syndrome in Male

Schizophrenics. *BioMed research international*, 2020, 9124520.
<https://doi.org/10.1155/2020/9124520>

- He, L., He, T., Farrar, S., Ji, L., Liu, T., & Ma, X. (2017). Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species.[Figura 2]. *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*, 44(2), 532–553.
<https://doi.org/10.1159/000485089>
- Heinen, I., Bullinger, M., & Kocalevent, R. D. (2017). Perceived stress in first year medical students - associations with personal resources and emotional distress. *BMC medical education*, 17(1), 4. <https://doi.org/10.1186/s12909-016-0841-8>
- Herb, M., & Schramm, M. (2021). Functions of ROS in Macrophages and Antimicrobial Immunity. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 10(2), 313.
<https://doi.org/10.3390/antiox10020313>
- Hernansanz-Agustín, P., & Enríquez, J. A. (2021). Generation of Reactive Oxygen Species by Mitochondria. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 10(3), 415.
<https://doi.org/10.3390/antiox10030415>
- Huhn, D., Schmid, C., Erschens, R., Junne, F., Herrmann-Werner, A., Möltner, A., Herzog, W., & Nikendei, C. (2018). A Comparison of Stress Perception in International and Local First Semester Medical Students Using Psychometric, Psychophysiological, and Humoral Methods. *International journal of environmental research and public health*, 15(12), 2820. <https://doi.org/10.3390/ijerph15122820>
- Islam, M. O., Bacchetti, T., & Ferretti, G. (2019). Alterations of Antioxidant Enzymes and Biomarkers of Nitro-oxidative Stress in Tissues of Bladder Cancer. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019, 2730896.
<https://doi.org/10.1155/2019/2730896>
- Kopacz, A., Kloska, D., Forman, H. J., Jozkowicz, A., & Grochot-Przeczek, A. (2020). Beyond repression of Nrf2: An update on Keap1. *Free radical biology & medicine*, 157, 63–74. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.03.023>
- Lee, P., Chandel, N. S., & Simon, M. C. (2020). Cellular adaptation to hypoxia through hypoxia inducible factors and beyond. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 21(5), 268–283. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0227-y>
- Li, H., & Xia, N. (2020). The role of oxidative stress in cardiovascular disease caused by social isolation and loneliness. *Redox biology*, 37, 101585.
<https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101585>
- Liang, X., Zhu, Y., & Fang, Y. (2020). COVID-19 and post-traumatic stress disorder: A vicious circle involving immunosuppression. *CNS neuroscience & therapeutics*, 26(8), 876–878. <https://doi.org/10.1111/cns.13431>

- Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D., & Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical interventions in aging*, 13, 757–772. <https://doi.org/10.2147/CIA.S158513>
- Lingappan, K., (2018). NF-κB in oxidative stress. *Current Opinion in Toxicology*, 7, 81–86. <https://doi.org/10.1016/j.cotox.2017.11.002>.
- Losiak, W., & Losiak-Pilch, J. (2020). Cortisol Awakening Response, Self-Reported Affect and Exam Performance in Female Students. *Applied psychophysiology and biofeedback*, 45(1), 11–16. <https://doi.org/10.1007/s10484-019-09449-9>
- Luo, J., Mills, K., le Cessie, S., Noordam, R., & van Heemst, D. (2020). Ageing, age-related diseases and oxidative stress: What to do next?. *Ageing research reviews*, 57, 100982. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2019.100982>
- Marrocco, I., Altieri, F., & Peluso, I. (2017). Measurement and Clinical Significance of Biomarkers of Oxidative Stress in Humans. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017, 6501046. <https://doi.org/10.1155/2017/6501046>
- Mayer, S., Lopez-Duran, N., Srijan Sen, James L. Abelson. (2018) Chronic stress, hair cortisol and depression: A prospective and longitudinal study of medical internship. *Psychoneuroendocrinology*. 92, 57-65. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2018.03.020>
- McGrattan, A. M., McGuinness, B., McKinley, M. C., Kee, F., Passmore, P., Woodside, J. V., & McEvoy, C. T. (2019). Diet and Inflammation in Cognitive Ageing and Alzheimer's Disease. *Current nutrition reports*, 8(2), 53–65. <https://doi.org/10.1007/s13668-019-0271-4>
- Melgarejo Pomar IG, Balanza Erquicia E, Torrez Colmena L, Quisberth Barrera S, Suzaño Vargas PL. (2017). Concentración de malondialdehído, en sujetos residentes de gran altura: estudio exploratorio. *Rev Perú Med Exp Salud Publica*. 34(4):677-81. doi: 10.17843/rpmesp.2017.344.2830
- Miller, E. D., Dziedzic, A., Saluk-Bijak, J., & Bijak, M. (2019). A Review of Various Antioxidant Compounds and their Potential Utility as Complementary Therapy in Multiple Sclerosis. *Nutrients*, 11(7), 1528. <https://doi.org/10.3390/nu11071528>
- Moldogazieva, N. T., Mokhosoev, I. M., Mel'nikova, T. I., Porozov, Y. B., & Terentiev, A. A. (2019). Oxidative Stress and Advanced Lipoxidation and Glycation End Products (ALEs and AGEs) in Aging and Age-Related Diseases. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019, 3085756. <https://doi.org/10.1155/2019/3085756>
- Moniruzzaman, M., Ghosal, I., Das, D., & Chakraborty, S. B. (2018). Melatonin ameliorates H₂O₂-induced oxidative stress through modulation of Erk/Akt/NFκB

pathway. *Biological research*, 51(1), 17. <https://doi.org/10.1186/s40659-018-0168-5>

- Morera L.P., Tempesti T. C., Pérez E., & Medrano L. A., (2019). Biomarcadores en la medición del estrés: una revisión sistemática. *Ansiedad y Estrés*, (29)49-58. <https://doi.org/10.1016/j.anyes.2019.02.001>
- Neha, K., Haider, M. R., Pathak, A., & Yar, M. S. (2019). Medicinal prospects of antioxidants: A review. *European journal of medicinal chemistry*, 178, 687–704. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.06.010>
- Nisr, R. B., Shah, D. S., Ganley, I. G., & Hundal, H. S. (2019). Proinflammatory NFkB signalling promotes mitochondrial dysfunction in skeletal muscle in response to cellular fuel overloading. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, 76(24), 4887–4904. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03148-8>
- Paladino, S., Conte, A., Caggiano, R., Pierantoni, G. M., & Faraonio, R. (2018). Nrf2 Pathway in Age-Related Neurological Disorders: Insights into MicroRNAs. *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*, 47(5), 1951–1976. <https://doi.org/10.1159/000491465>
- Patergnani, S., Bouhamida, E., Leo, S., Pinton, P., & Rimessi, A. (2021). Mitochondrial Oxidative Stress and "Mito-Inflammation": Actors in the Diseases. *Biomedicines*, 9(2), 216. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9020216>
- Pelster, B., Wood, C. M., Campos, D. F., & Val, A. L. (2020). Cellular oxygen consumption, ROS production and ROS defense in two different size-classes of an Amazonian obligate air-breathing fish (*Arapaima gigas*). *PloS one*, 15(7), e0236507. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236507>
- Pisoschi, A. M., Pop, A., Iordache, F., Stanca, L., Predoi, G., & Serban, A. I. (2021). Oxidative stress mitigation by antioxidants - An overview on their chemistry and influences on health status. *European journal of medicinal chemistry*, 209, 112891. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112891>
- Plumber, N., Majeed, M., Ziff, S., Thomas, S. E., Bolla, S. R., & Gorantla, V. R. (2021). Stimulant Usage by Medical Students for Cognitive Enhancement: A Systematic Review. *Cureus*, 13(5), e15163. <https://doi.org/10.7759/cureus.15163>
- Pozos-Radillo, E., Preciado-Serrano, L., Plascencia-Campos, A., Morales-Fernández, A., & Valdez-López, R. (2018). Predictive study of academic stress with the irritable bowel syndrome in medicine students at a public university in Mexico. *The Libyan journal of medicine*, 13(1), 1479599. <https://doi.org/10.1080/19932820.2018.1479599>

- Redman, L. M., Smith, S. R., Burton, J. H., Martin, C. K., Il'yasova, D., & Ravussin, E. (2018). Metabolic Slowing and Reduced Oxidative Damage with Sustained Caloric Restriction Support the Rate of Living and Oxidative Damage Theories of Aging. *Cell metabolism*, 27(4), 805–815.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.02.019>
- Roberts, K. P., Ensrud, K. M., & Hamilton, D. W. (2002). A comparative analysis of expression and processing of the rat epididymal fluid and sperm-bound forms of proteins D and E. *Biology of reproduction*, 67(2), 525–533. <https://doi.org/10.1095/biolreprod67.2.525>
- Ryosuke Shirakawa, T. Y. (2019). Mitochondrial reactive oxygen species generation in blood cells is associated with disease severity and exercise intolerance in heart failure patients. *nature cientific report*, 8.
- Rudland, J. R., Golding, C., & Wilkinson, T. J. (2020). The stress paradox: how stress can be good for learning. *Medical education*, 54(1), 40–45. <https://doi.org/10.1111/medu.13830>
- Sagalajev, B., Wei, H., Chen, Z., Albayrak, I., Koivisto, A., & Pertovaara, A. (2018). Oxidative Stress in the Amygdala Contributes to Neuropathic Pain. *Neuroscience*, 387, 92–103. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2017.12.009>
- Seyedsadjadi, N., & Grant, R. (2020). The Potential Benefit of Monitoring Oxidative Stress and Inflammation in the Prevention of Non-Communicable Diseases (NCDs). *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 10(1), 15. <https://doi.org/10.3390/antiox10010015>
- Shafiee, M., Ahmadnezhad, M., Tayefi, M., Arekhi, S., Vatanparast, H., Esmaeili, H., Moohebat, M., Ferns, G. A., Mokhber, N., Arefhosseini, S. R., & Ghayour-Mobarhan, M. (2018). Depression and anxiety symptoms are associated with prooxidant-antioxidant balance: A population-based study. *Journal of affective disorders*, 238, 491–498. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2018.05.079>
- Sies H. (2017). Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress. *Redox biology*, 11, 613–619. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.12.035>
- Sivandzade, F., Prasad, S., Bhalerao, A., & Cucullo, L. (2019). NRF2 and NF-κB interplay in cerebrovascular and neurodegenerative disorders: Molecular mechanisms and possible therapeutic approaches. [Figura 3 & 4]. *Redox biology*, 21, 101059. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.11.017>
- Sivandzade, F., Bhalerao, A., & Cucullo, L. (2019). Cerebrovascular and Neurological Disorders: Protective Role of NRF2. *International journal of molecular sciences*, 20(14), 3433. <https://doi.org/10.3390/ijms20143433>

- Skrajnowska, D., & Bobrowska-Korczak, B. (2019). Role of Zinc in Immune System and Anti-Cancer Defense Mechanisms. *Nutrients*, 11(10), 2273. <https://doi.org/10.3390/nu11102273>
- Stegers-Jager, K. M., Savas, M., van der Waal, J., van Rossum, E., & Woltman, A. M. (2020). Gender-specific effects of raising Year-1 standards on medical students' academic performance and stress levels. *Medical education*, 54(6), 538–546. <https://doi.org/10.1111/medu.14068>
- Suh, D. I., Kang, M. J., Park, Y. M., Lee, J. K., Lee, S. Y., Sheen, Y. H., Kim, K. W., Ahn, K., Won, H. S., Lee, M. Y., Choi, S. J., Kwon, J. Y., Park, H. J., Jun, J. K., Hong, S. J., & Koh, Y. Y. (2019). Leukocyte Telomere Length Reflects Prenatal Stress Exposure, But Does Not Predict Atopic Dermatitis Development at 1 Year. *Allergy, asthma & immunology research*, 11(3), 357–366. <https://doi.org/10.4168/aaair.2019.11.3.357>
- Suzuki, T., & Yamamoto, M. (2017). Stress-sensing mechanisms and the physiological roles of the Keap1-Nrf2 system during cellular stress. *The Journal of biological chemistry*, 292(41), 16817–16824. <https://doi.org/10.1074/jbc.R117.800169>
- Tong, Y., & Wang, S. (2020). Not All Stressors Are Equal: Mechanism of Stressors on RPE Cell Degeneration. *Frontiers in cell and developmental biology*, 8, 591067. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.591067>
- Thomas, L. W., & Ashcroft, M. (2019). Exploring the molecular interface between hypoxia-inducible factor signalling and mitochondria. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, 76(9), 1759–1777. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03039-y>
- Torres-Arce, E., Vizmanos, B., Babio, N., Márquez-Sandoval, F., & Salas-Huetos, A. (2021). [figura 1].Dietary Antioxidants in the Treatment of Male Infertility: Counteracting Oxidative Stress. [Figura 1]. *Biology*, 10(3), 241. <https://doi.org/10.3390/biology10030241>
- Tsang, C., Hodgson, L., Bussu, A., Farhat, G., & Al-Dujaili, E. (2019). Effect of Polyphenol-Rich Dark Chocolate on Salivary Cortisol and Mood in Adults. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 8(6), 149. <https://doi.org/10.3390/antiox8060149>
- Tsikas D. (2017). Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. *Analytical biochemistry*, 524, 13–30. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2016.10.021>
- Umeno, A. B. (2017). In vivo ROS production and use of oxidative stress-derived biomarkers to detect the onset of diseases such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease and deabetes. *Free radical research*, 51(4), 413-427.

- van Gisbergen, M. W., Cebula, M., Zhang, J., Ottosson-Wadlund, A., Dubois, L., Lambin, P., Tew, K. D., Townsend, D. M., Haenen, G. R., Driittij-Reijnders, M. J., Saneyoshi, H., Araki, M., Shishido, Y., Ito, Y., Arnér, E. S., Abe, H., Morgenstern, R., & Johansson, K. (2016). Chemical Reactivity Window Determines Prodrug Efficiency toward Glutathione Transferase Overexpressing Cancer Cells. *Molecular pharmaceuticals*, 13(6), 2010–2025. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.6b00140>
- Velten, J., Bieda, A., Scholten, S., Wannemüller, A., & Margraf, J. (2018). Lifestyle choices and mental health: a longitudinal survey with German and Chinese students. *BMC public health*, 18(1), 632. <https://doi.org/10.1186/s12889-018-5526-2>
- Wellman, C. L., & Moench, K. M. (2019). Preclinical studies of stress, extinction, and prefrontal cortex: intriguing leads and pressing questions. *Psychopharmacology*, 236(1), 59–72. <https://doi.org/10.1007/s00213-018-5023-4>
- Winiarska-Mieczan, A., Baranowska-Wójcik, E., Kwiecień, M., Grela, E. R., Szwajgier, D., Kwiatkowska, K., & Kiczorowska, B. (2020). The Role of Dietary Antioxidants in the Pathogenesis of Neurodegenerative Diseases and Their Impact on Cerebral Oxidoreductive Balance. *Nutrients*, 12(2), 435. <https://doi.org/10.3390/nu12020435>
- Winther, J. R., & Thorpe, C. (2014). Quantification of thiols and disulfides. *Biochimica et biophysica acta*, 1840(2), 838–846. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.03.031>
- Wu, L., Sedgwick, A. C., Sun, X., Bull, S. D., He, X. P., & James, T. D. (2019). Reaction-Based Fluorescent Probes for the Detection and Imaging of Reactive Oxygen, Nitrogen, and Sulfur Species. *Accounts of chemical research*, 52(9), 2582–2597. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.9b00302>
- Yang, J., Fernández-Galilea, M., Martínez-Fernández, L., González-Muniesa, P., Pérez-Chávez, A., Martínez, J. A., & Moreno-Aliaga, M. J. (2019). Oxidative Stress and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Effects of Omega-3 Fatty Acid Supplementation. *Nutrients*, 11(4), 872. <https://doi.org/10.3390/nu11040872>
- Yaribeygi, H., Sathyapalan, T., Jamialahmadi, T., & Sahebkar, A. (2020). The Impact of Diabetes Mellitus in COVID-19: A Mechanistic Review of Molecular Interactions. *Journal of diabetes research*, 2020, 5436832. <https://doi.org/10.1155/2020/5436832>
- Yavas, E., Gonzalez, S., & Fanselow, M. S. (2019). Interactions between the hippocampus, prefrontal cortex, and amygdala support complex learning and memory. *F1000Research*, 8, F1000 Faculty Rev-1292. <https://doi.org/10.12688/f1000research.19317.1>

- Zhang, X., Deng, X., Zhou, J., Qiu, K., Deng, M., Lin, Z., Mosha, S. S., & Li, W. (2020). The Association Of Serum Cortisol Level With Microalbuminuria In Patients With Type 2 Diabetes And Prediabetes. *International journal of medical sciences*, 17(18), 2998–3004. <https://doi.org/10.7150/ijms.48742>
- Zhu, Y., Ji, H., Tao, L., Cai, Q., Wang, F., Ji, W., Li, G., & Fang, Y. (2020). Functional Status of Hypothalamic-Pituitary-Thyroid and Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axes in Hospitalized Schizophrenics in Shanghai. *Frontiers in psychiatry*, 11, 65. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2020.00065>

ANEXOS

Anexos A

INVENTARIO DE ALIMENTOS

Por favor, señale si usted consume los alimentos enlistados de manera diaria, semanal o mensual. Asimismo, señale si su familia consume también dichos alimentos. En la tabla se presenta un ejemplo.

Ejemplo					
Alimentos	Personal			Familiar	Situación
	Diariamente	Semanal	Mensual		
Chicharrón de puerco			X	X	Mi familia y yo consumimos chicharrón por lo menos una vez por mes.
Avellanas	X				Solo yo consumo avellanas diariamente.

Inventario de consumo de alimentos														
Alimentos	Personal			Familiar	Alimentos	Personal			Familiar	Alimentos	Personal			Familiar
	Diariamente	Semanal	Mensual			Diariamente	Semanal	Mensual			Diariamente	Semanal	Mensual	
Aguacate					Puré de manzana					Pimiento				
Arándano					Sandía					Rábano				
Cereza					Tuna					Remolacha (betabel)				
Ciruela					Uvas					Tomate				
Ciruela pasa					Acelga					Zanahoria				
Cóctel de frutas					Apio					Arroz				
Duraznos					Berenjena					Avena				
Frambuesa					Brócoli					Cereales				
Fresa					Calabaza					Donas				
Higos					Cebolla					Espagueti				
Jugo de manzana					Chayote					Fideos				
Kiwi					Chícharo					Frituras de papa				

Mandarinas					Col (repollo)					Galletas				
Mango					Coliflor					Pan dulce				
Manzana					Ejotes					Pan blanco				
Melón					Espárrago					Pan de maíz				
Moras					Espinaca					Papas fritas				
Naranja					Hongos					Pastas				
Pasas					Jitomate					Pastel				
Pera					Lechuga					Puré de papa				
Piña					Nopal					Maíz				
Plátano					Papa					Crema				
Plátano seco					Pepino					Helado				

Inventario de consumo de alimentos														
Alimentos	Personal			Familiar	Alimentos	Personal			Familiar	Alimentos	Personal			Familiar
	Diariamente	Semanal	Mensual			Diariamente	Semanal	Mensual			Diariamente	Semanal	Mensual	
Huevos					Puerco									
Leche de vaca					Res									
Leche de cabra					Salchicha									
Leche con chocolate					Salmón									
Nata					Ternera									
Pudin					Tocino									
Queso americano					Cheetos									
Queso manchego					Chocolate									
Queso de hebra					Doritos									
Queso cottage					Gelatina									
Queso fresco					Gomitas									
Yogurt					Hamburguesa									

Almejas					Hotcakes									
Atún					Hot dog									
Carne molida					Lasaña									
Cacahuates					Pay									
Camarón					Pizza									
Conejo					Sándwich									
Frijoles					Sopas									
Garbanzo					Tacos									
Habas					Tamal									
Hígado					Tortilla									
Jamón														
Lentejas														
Nueces														
Otras nueces														
Pavo														
Pescado														
Pescado empanizado														
Pollo														
Pollo empanizado														

ANEXO B

CUESTIONARIO DE SALUD Y VIDA COTIDIANA

Su salud en los últimos doce meses

1. Por favor señale si ha tenido alguna de las siguientes enfermedades en el último año. Conteste si solo si la enfermedad fue diagnosticada por un médico.

Anemia	Si	No	Problemas serios con la espalda	Si	No
Asma	Si	No	Problemas con el corazón	Si	No
Úlceras	Si	No	Problemas respiratorios	Si	No
Presión alta	Si	No	Problemas de riñón	Si	No
Cáncer	Si	No	Infecciones	Si	No
Bronquitis	Si	No	Reumas	Si	No
Diabetes	Si	No	Problemas con el hígado	Si	No

2. Por favor señale, usando la siguiente escala, qué tan frecuentemente usó los siguientes medicamentos en el último año:

	NUNCA	RARA VEZ	EN OCASION ES	CASI SIEMPRE	SIEMPRE
a) Pastillas para alergias	①	②	③	④	⑤
b) Pastillas para el dolor	①	②	③	④	⑤
c) Pastillas para dormir	①	②	③	④	⑤
d) Medicamentos para la digestión	①	②	③	④	⑤
e) Tranquilizantes	①	②	③	④	⑤
f) Vitaminas	①	②	③	④	⑤
g) Laxantes	①	②	③	④	⑤
h) Antigripales	①	②	③	④	⑤
i) Antibióticos	①	②	③	④	⑤
j) Antidepresivos	①	②	③	④	⑤
k) Aspirinas	①	②	③	④	⑤
l) Anfetaminas	①	②	③	④	⑤

3. ¿Qué tan frecuentemente ha tenido alguno de los siguientes síntomas durante el último año?

	NUNCA	RARA VEZ	EN OCASION ES	CASI SIEMPR E	SIEMPR E
a) Ha sentido debilidad	①	②	③	④	⑤
b) Ha sentido de repente calor en todo el cuerpo	①	②	③	④	⑤
c) Ha sentido que el corazón le late fuertemente	①	②	③	④	⑤
d) Ha tenido poco apetito	①	②	③	④	⑤
e) Ha tenido mareos	①	②	③	④	⑤
f) Ha tenido dolores en alguna parte del cuerpo	①	②	③	④	⑤
g) Ha tenido acidez estomacal o indigestión	①	②	③	④	⑤
h) Ha sentido escalofríos	①	②	③	④	⑤
i) Ha tenido manos temblorosas	①	②	③	④	⑤
j) Ha tenido dolor de cabeza	①	②	③	④	⑤
k) Ha tenido estreñimientos	①	②	③	④	⑤
l) Ha sufrido insomnio	①	②	③	④	⑤
m) Ha tenido pérdida de peso	①	②	③	④	⑤
n) Ha tenido síntomas físico o enfermedades	①	②	③	④	⑤

4. ¿Qué tan frecuentemente ha sentido o se ha sentido?

	NUNC A	RAR A VEZ	EN OCASIO NES	CASI SIEMP RE	SIEMP RE
a) Que no puede empezar ninguna actividad	①	②	③	④	⑤
b) Que se preocupa demasiado	①	②	③	④	⑤
c) Que su memoria no está del todo bien	①	②	③	④	⑤
d) Preocupaciones personales que le hacen sentir enfermo	①	②	③	④	⑤
e) Que nada le sale bien	①	②	③	④	⑤
f) Que ya no existe algo que todavía valga la pena	①	②	③	④	⑤
g) Inquieto (a)	①	②	③	④	⑤
h) Deprimido, triste o melancólico(a)	①	②	③	④	⑤
i) Con pensamientos acerca de la muerte o el suicidio	①	②	③	④	⑤
j) Ganas de llorar	①	②	③	④	⑤
k) Lástima o pena por usted mismo	①	②	③	④	⑤
l) Con pérdida de energía, fatiga o cansancio	①	②	③	④	⑤
m) Lentitud o apatía para iniciar actividades	①	②	③	④	⑤
n) Culpabilidad	①	②	③	④	⑤
o) Sin valor o despreciable	①	②	③	④	⑤
p) Que no se puede concentrar	①	②	③	④	⑤
q) Sentimientos negativos o pesimistas	①	②	③	④	⑤
r) Sentimientos de soledad	①	②	③	④	⑤
s) Sentimientos ofensivos, irritabilidad o enojo	①	②	③	④	⑤
t) Necesidad de que lo tranquilicen o ayuden	①	②	③	④	⑤

5. Para cada adjetivo que se menciona a continuación, indique con el número de la siguiente escala, cuánto le describe a usted.

	① NO ME DESCRIBE NADA	② ME DESCRIBE POCO	③ ME DESCRIBE ALGO	④ ME DESCRIBE BIEN	⑤ ME DESCRIBE EXACTAMENTE
a) Agresivo	①	②	③	④	⑤
b) Ambicioso	①	②	③	④	⑤
c) Seguro de sí mismo	①	②	③	④	⑤
d) Exitoso	①	②	③	④	⑤
e) Accesible	①	②	③	④	⑤
f) Activo	①	②	③	④	⑤
g) Extrovertido	①	②	③	④	⑤
h) Calmado	①	②	③	④	⑤
i) Confiado	①	②	③	④	⑤
j) Feliz	①	②	③	④	⑤

IDARE. INVENTARIO DE AUTOEVALUACIÓN

Instrucciones: Algunas expresiones que la gente usa para describirse aparecen abajo. Lea cada frase y llene el círculo numerado que indique cómo se siente ahora mismo, o sea, en este momento. No hay contestaciones buenas o malas. No emplee mucho tiempo en cada frase, pero trate de dar la respuesta que mejor describa sus sentimientos ahora.

MUCHO
BASTANTE
UN POCO
NO EN LO
ABSOLUTO

- | | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 1. Me siento calmado(a) | ① | ② | ③ | ④ |
| 2. Me siento seguro(a) | ① | ② | ③ | ④ |
| 3. Estoy tenso(a) | ① | ② | ③ | ④ |
| 4. Estoy contrariado(a) | ① | ② | ③ | ④ |
| 5. Estoy a gusto | ① | ② | ③ | ④ |
| 6. Me siento alterado(a) | ① | ② | ③ | ④ |
| 7. Estoy preocupado(a) por algún posible contratiempo | ① | ② | ③ | ④ |
| 8. Me siento descansado(a) | ① | ② | ③ | ④ |
| 9. Me siento ansioso | ① | ② | ③ | ④ |
| 10. Me siento cómodo(a) | ① | ② | ③ | ④ |
| 11. Me siento con confianza en mí mismo(a) | ① | ② | ③ | ④ |
| 12. Me siento nervioso(a) | ① | ② | ③ | ④ |
| 13. Me siento agitado(a) | ① | ② | ③ | ④ |
| 14. Me siento "a punto de explotar" | ① | ② | ③ | ④ |
| 15. Me siento reposado(a) | ① | ② | ③ | ④ |
| 16. Me siento satisfecho(a) | ① | ② | ③ | ④ |
| 17. Estoy preocupado(a) | ① | ② | ③ | ④ |
| 18. Me siento agitado(a) y aturdido(a) | ① | ② | ③ | ④ |
| 19. Me siento alegre | ① | ② | ③ | ④ |
| 20. Me siento bien..... | ① | ② | ③ | ④ |

Instrucciones: Algunas expresiones que la gente usa para describirse aparecen abajo. Lea cada frase y llene el círculo numerado que indique cómo se siente *generalmente*. No hay contestaciones buenas o malas. No emplee mucho tiempo en cada frase, pero trate de dar la respuesta que mejor describa cómo se siente *generalmente*.

CASI SIEMPRE
FRECUENTEMENTE
ALGUNAS VECES
CASI NUNCA

- | | | | | |
|--|---|---|---|---|
| 21. Me siento bien | ① | ② | ③ | ④ |
| 22. Me canso rápidamente | ① | ② | ③ | ④ |
| 23. Siento ganas de llorar | ① | ② | ③ | ④ |
| 24. Quisiera ser tan feliz como otros parecen serlo | ① | ② | ③ | ④ |
| 25. Pierdo oportunidades por no poder decidirme rápidamente | ① | ② | ③ | ④ |
| 26. Me siento descansado(a) | ① | ② | ③ | ④ |
| 27. Soy una persona "tranquila, serena y sosegada" | ① | ② | ③ | ④ |
| 28. Siento que las dificultades se me amontonan al punto de no poder superarlas.... | ① | ② | ③ | ④ |
| 29. Me preocupo demasiado por cosas sin importancia | ① | ② | ③ | ④ |
| 30. Soy feliz | ① | ② | ③ | ④ |
| 31. Tomo las cosas muy a pecho | ① | ② | ③ | ④ |
| 32. Me falta confianza en mí mismo(a) | ① | ② | ③ | ④ |
| 33. Me siento seguro(a) | ① | ② | ③ | ④ |
| 34. Procuro evitar enfrentarme a las crisis y dificultades | ① | ② | ③ | ④ |
| 35. Me siento melancólico(a) | ① | ② | ③ | ④ |
| 36. Me siento satisfecho(a) | ① | ② | ③ | ④ |
| 37. Algunas ideas poco importantes pasan por mi mente y me molestan | ① | ② | ③ | ④ |
| 38. Me afectan tanto los engaños que no me los puedo quitar de la cabeza | ① | ② | ③ | ④ |
| 39. Soy una persona estable | ① | ② | ③ | ④ |
| 40. Cuando pienso en mis preocupaciones actuales me pongo tenso(a) y alterado(a) | ① | ② | ③ | ④ |

ANEXO C

INVENTARIO SISCO DE ESTRÉS ACADÉMICO

El presente cuestionario tiene como objetivo central reconocer las características del estrés que suele acompañar a los estudiantes de educación media superior, superior y de posgrado durante sus estudios. La sinceridad con que responda a los cuestionamientos será de gran utilidad para la investigación. La información que se proporcione será totalmente confidencial y solo se manejarán resultados globales. La respuesta a este cuestionario es voluntaria por lo que usted está en su derecho de contestarlo o no contestarlo.

1. Durante el transcurso de este semestre ¿has tenido momentos de preocupación o nerviosismo?

- a. Si
- b. No

En caso de seleccionar la alternativa no, el cuestionario se da por concluido, en caso de seleccionar la alternativa si, pasar a la pregunta número dos y continuar con el resto de las preguntas.

2. Con la idea de obtener mayor precisión y utilizando una escala del 1 al 5 señala tu nivel de preocupación o nerviosismo, donde 1 es poco y 5 es mucho.

1	2	3	4	5

3. En una escala del 1 al 5 donde 1 es nunca, 2 es rara vez, 3 algunas veces, 4 es casi siempre y 5 es siempre, señala con qué frecuencia te inquietaron las siguientes situaciones:

	Nunca	Rara vez	Algunas veces	Casi siempre	Siempre
La competencia con los compañeros del grupo	①	②	③	④	⑤
Sobrecarga de tareas y trabajos escolares	①	②	③	④	⑤
La personalidad y el carácter del profesor	①	②	③	④	⑤
Las evaluaciones de los profesores (exámenes, ensayos, trabajos de investigación, etc.)	①	②	③	④	⑤
El tipo de trabajo que te piden los profesores (consulta de temas, fichas de trabajo, ensayos, mapas conceptuales, etc.)	①	②	③	④	⑤
No entender los temas que se abordan en la clase	①	②	③	④	⑤
Participación en clase (responder preguntas, exposiciones, etc.)	①	②	③	④	⑤
Tiempo limitado para hacer el trabajo	①	②	③	④	⑤
Otra (Especifique): _____	①	②	③	④	⑤

4. En una escala del 1 al 5 donde 1 es nunca, 2 es rara vez, 3 es algunas veces, 4 es casi siempre y 5 es siempre, señala con qué frecuencia tuviste las siguientes reacciones físicas, psicológicas y comportamentales cuando estabas preocupado o nervioso.

Reacciones físicas

	Nunca	Rara vez	Algunas veces	Casi siempre	Siempre
Trastornos en el sueño (insomnio o pesadillas)	①	②	③	④	⑤
Fatiga crónica (cansancio permanente)	①	②	③	④	⑤
Dolores de cabeza o migrañas	①	②	③	④	⑤
Problemas de digestión, dolor abdominal o diarrea	①	②	③	④	⑤
Rascarse, morderse las uñas, frotarse, etc.	①	②	③	④	⑤
Somnolencia o mayor necesidad de dormir	①	②	③	④	⑤

Reacciones psicológicas

	Nunca	Rara vez	Algunas veces	Casi siempre	Siempre
Inquietud (incapacidad de relajarse y estar tranquilo)	①	②	③	④	⑤
Sentimientos de depresión y tristeza (decaído)	①	②	③	④	⑤
Ansiedad, angustia o desesperación	①	②	③	④	⑤
Problemas de concentración	①	②	③	④	⑤
Sentimiento de agresividad o aumento de irritabilidad	①	②	③	④	⑤

Reacciones comportamentales

	Nunca	Rara vez	Algunas veces	Casi siempre	Siempre
Conflictos o tendencia para polemizar o discutir	①	②	③	④	⑤
Aislamiento de los demás	①	②	③	④	⑤
Desgano para realizar las labores escolares	①	②	③	④	⑤
Aumento o reducción del consumo de alimento	①	②	③	④	⑤

Otras (especifique)

	Nunca	Rara vez	Algunas veces	Casi siempre	Siempre
	①	②	③	④	⑤

5. En una escala del 1 al 5 donde 1 es nunca, 2 es rara vez, 3 es algunas veces, 4 es casi siempre y 5 es siempre, señala con qué frecuencia utilizaste las siguientes estrategias para enfrentar la situación que te causaba la preocupación o el nerviosismo.

	Nunca	Rara vez	Algunas veces	Casi siempre	Siempre
Habilidad asertiva (defender nuestras preferencias, ideas o sentimientos sin dañar a otros)	①	②	③	④	⑤
Elaboración de un plan de ejecución de sus tareas	①	②	③	④	⑤
Elogios a sí mismo	①	②	③	④	⑤
La religiosidad (oraciones o asistencia a misa)	①	②	③	④	⑤
Elaboración de un plan y ejecución de sus tareas	①	②	③	④	⑤
Búsqueda de información sobre la situación	①	②	③	④	⑤
Ventilación y confidencias (verbalización de la situación que preocupa)	①	②	③	④	⑤
Otra (Especifique): _____	①	②	③	④	⑤

ANEXO D

SOD

Se diluyeron 20 μ l de plasma de 10 veces con ddH₂O, se preparó solución WST diluyendo 1mL de solución WST con 9mL de SOD Assay Buffer y se formaron alícuotas de 1mL, la solución enzimática de SOD se centrifugo por 5 s y se mezcló por pipeteo, posteriormente se diluyeron 15 μ L con 2.5 de dilución buffer, el buffer de ensayo de SOD y la dilución buffer de ensayo se encuentran listas para su uso.

En una placa de 96 pocillos se seleccionaron pocillos para blanco 1 con 20 μ L de ddH₂O, el blanco 2 con 20 μ L de muestra, el blanco 3 con 20 μ L de ddH₂O y un pozo de muestra con 20 μ L de muestra. Se añadió 200 μ L de WST de solución de trabajo a cada pozo seleccionado, posteriormente se añadieron 20 μ L de dilución buffer para blanco 2 y 3, se añadieron 20 μ L de solución enzimática de trabajo a cada pozo que contenía muestra y al blanco 1, seguido procedió a mezclar e incubar a 37°C por 20 minutos, y se midió la absorbancia a 450 nm en un lector de placa.

Los resultados se expresaron en unidades (U) por miligramo de proteína soluble (U/mL). Una unidad de actividad de SOD se define como la cantidad de enzima necesaria para inhibir el 50% de la máxima de O₂⁻ (Ardjmand, et ál., 2019; Aydin, 2015).

DETERMINACIÓN DE TIOLES TOTALES

Se prepararon las siguientes soluciones de trabajo para la determinación de tioles totales:

- 100 mM Tris pH 8.0: Se disolvió 1.2 g de Tris en 100 ml de H₂O. se ajustó el pH a lo solicitado.
- Mezcla de reacción (1 mM DTNB, 1 mM EDTA): Se prepararon 12 mg de DTNB y 11 mg de EDTA en 30 ml de Tris.
- GSH STOCK (500 nmol/ml): Se disolvió 1.5 mg de GSH en 10 ml de H₂O.
- Curva estándar GSH: Se preparó una curva estándar de 0, 62.5, 125, 250 y 500 nmol/ml GSH en H₂O.

Posteriormente se colocaron 15 μ l de plasma y de cada uno de los tubos de la curva estándar de GSH en los pozos de la microplaca, se agregaron 185 μ l de la mezcla de

reacción se incubó por 10 minutos a temperatura ambiente al término del tiempo de incubación se midió la absorbancia en un lector de microplaca a 412 nm. La concentración de tioles totales se expresa en nmol/mg de proteína.

CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS POR BCA

La muestra, que consistió en 25 µl de plasma humano se diluyó con ddH₂O de la siguiente manera 1:10, 1:20, 1:50 y sin diluir. Se preparó la solución estándar en 7 viales con ddH₂O + BSA (1 mL de ddH₂O + 2 mg/mL) obteniendo una concentración final de BSA de 0, 5, 25, 50, 125, y 250 µg/mL, la solución de trabajo se realizó 50 partes del reactivo A contra 1 parte del reactivo B, (4 mL de A y 80 µL de B). En una placa de 96 pocillos se colocaron 25 µL de solución estándar por duplicado al igual que las muestras, seguido de 200 µL de solución de trabajo a cada pocillo con solución estándar y muestras, se mezcló por 30 s se cubrió la placa, posteriormente se incubó a 37 °C por 30 min al concluir el tiempo de incubación se dejó enfriar la placa por 10 min para su medición a 562 nm en lector de microplaca.

La concentración de proteínas se determina a partir de una curva de calibración construida con una proteína de referencia de concentración conocida. A partir de esta curva se determina la concentración de la muestra de proteína incógnita (Roberts et ál, 2002; Adilakshami & Laine, 2002).

DETERMINACIÓN DE NIVELES DE CORTISOL

Para llevar a cabo el ensayo se preparó un buffer de lavado 1X con una dilución de 15 mL de concentrado de solución de lavado (20X) + 285 mL con dH₂O y se etiquetó como 1X buffer de lavado. También se preparó un buffer de ensayo 1X con una dilución de 14 mL de buffer ensayo (5X) + 56 mL dH₂O el cual se etiquetó como 1X buffer de ensayo.

La preparación de la muestra consistió en 5 µL de plasma en un tubo de ensayo junto con 5 µL de reactivo de disociación previamente calentado a temperatura ambiente, se mezcló con vórtex cuidadosamente y se dejó incubar a temperatura ambiente por 5 min, se añadieron 490 µL de 1X Assay buffer para preparar una dilución de 1:100 de la muestra, resultando 500 µL finales.

Para la solución estándar se emplearon tubos de ensayo de cristal, inicialmente se añadió 50 µL de estándar de cortisol en un tubo con 450 µL de 1X buffer de ensayo y se etiquetó como 3,200 pg/mL de cortisol, posteriormente se añadieron 250 µL de 1X Assay buffer para cada tubo en 7 tubos y se etiquetaron de la siguiente manera: 1,600; 800; 400; 200; 100; 50 y 0 pg/mL de cortisol.

Para la unión del antígeno en una placa de 96 pocillos en la cual se eligieron 8 pocillos para llevar a cabo el ensayo, se emplearon 50 µL de muestra + 75 µL de 1X de buffer de ensayo + 25 µL de conjugado de cortisol + 25 µL de anticuerpo de cortisol, se mezclaron los componentes y se incubaron a temperatura ambiente por 1 hora con la placa cubierta, al término del tiempo de incubación se lavó la placa 4 veces con 300 µL de 1X de buffer de lavado seguido se añadió el cromógeno 100 µL de sustrato de TMB a cada pozo, se incubó a temperatura ambiente por 30 min. Por último se añadieron 50 µL de solución de parada a cada pozo seleccionado, mezclando suavemente, la solución toma una coloración amarilla la cual es leída después de 10 min a 450 nm en lector de microplaca, los resultados se expresan µg/dL de cortisol presente en la muestra.