

Estandarización de valores de referencia de parámetros de estrés oxidativo

Oxidative stress reference parameters standardization

Liuba Arteche Hidalgo,^I Maura García Sánchez,^{II} Maritza Leyva Cerulia,^{II}
Sara Martínez Martín^{II}

^I Universidad de Ciencias Médicas de las FAR. La Habana, Cuba.

^{II} Hospital Militar Central "Dr. Luis Díaz Soto". La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: El estrés oxidativo ocupa cada vez más el interés de los científicos a nivel mundial debido a que estos procesos están involucrados en muchas de las enfermedades de mayor incidencia, entre las que se encuentran: el cáncer, las enfermedades cerebrovasculares, la diabetes mellitus, entre otras. Se hace necesario establecer en condiciones locales, los intervalos de referencia para realizar estas investigaciones de laboratorio.

Objetivo: Estandarizar los valores de referencia de algunos parámetros del estrés oxidativo, su empleo en la evaluación de determinadas enfermedades y en el personal sano.

Resultados: Los parámetros evaluados difieren en cierto grado aunque no de forma significativa a los valores de referencias de otros centros y en algunos casos utilizan también *kits* diagnósticos importados. De forma general se obtuvieron valores medios menores que los utilizados hasta ahora.

Conclusiones: Se estandarizaron valores de referencias en parámetros marcadores del estrés oxidativo, tanto en sujetos sanos, como en enfermos con hipertensión y diabetes mellitus.

Palabras clave: estrés oxidativo; malonilaldehído; productos avanzados de la oxidación de proteínas; organoperóxidos totales.

ABSTRACT

Introduction: Oxidative stress occupies more and more the interest of scientists worldwide because these processes are involved in many of the diseases of greatest incidence, such as: cancer, cerebrovascular diseases, diabetes mellitus, among

others. It is necessary to establish the local reference intervals to perform laboratory investigations on this issue.

Objective: To standardize the reference values of some parameters of oxidative stress, its use in the evaluation of some diseases and in healthy personnel.

Results: The parameters evaluated differ to a certain degree, although not significantly, from the reference values of other centers, and in some cases they also use imported diagnostic kits. In general, lower mean values than those used up to now were obtained.

Conclusions: Reference values were standardized in markers of oxidative stress, both in healthy subjects and in patients with hypertension and diabetes mellitus.

Key words: Oxidative stress; malonylaldehyde; advanced products of protein oxidation; total organoperoxides.

INTRODUCCIÓN

Un radical libre es una especie química definida, que tiene en su estructura uno o más electrones no apareados, caracterizada por su elevada reactividad y capacidad de formar otros radicales libres por reacciones químicas en cadena. A diferencia de las especies químicas que poseen una carga eléctrica (iones), que son generalmente estables en los medios más comunes, muchos radicales libres son inestables, por lo que tienden a reaccionar rápidamente con otros componentes químicos.¹⁻³

Las especies reactivas de oxígeno (ERO) incluyen a los radicales libres y a moléculas derivadas del oxígeno de interés biológico con una elevada reactividad, que son capaces de producir radicales libres en el organismo humano. Las ERO más comunes y de mayor importancia biológica son las siguientes: oxígeno inglete ($^1\text{O}_2$), radical hidroxilo (HO), radical alcóxilo (RO), radical-anión superóxido (O_2^-), óxido nítrico (NO), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), ácido hipocloroso (HOCl) y peroxinitrito (ONOO^-).

Existe otro grupo de radicales libres donde el electrón no apareado tiene como centro a átomos de carbono (C), nitrógeno (N) o azufre (S).²⁻⁵

Una fuente generadora de ERO es la alteración estructural de macromoléculas esenciales de la célula (ADN, proteínas y lípidos), sobre las cuales se originan reacciones químicas irreversibles para su funcionamiento. Estas reacciones generan derivados (ej. malondialdehído e hidropéroxidos orgánicos) que propagan el daño oxidativo en el organismo humano. Aunque aún resulta un tema controvertido, de forma general se acepta que esta tercera vía de producción de ERO es una consecuencia de alteraciones genéticas (hereditarias o no) o de desórdenes fisiológicos del organismo como resultado de alguna enfermedad. Sin embargo, otros autores, a partir de algunas evidencias experimentales, consideran lo contrario. Es decir, que la causa de dichas alteraciones genéticas o desórdenes fisiológicos es la sobreproducción de ERO, bien sea de forma endógena o exógena, lo cual favorece la fragmentación del ADN y la ruptura de la pared celular. Por tanto el tema del estrés oxidativo debe tener una importancia mayor en la terapia de enfermedades de la que se le ha atribuido hasta el momento.⁴⁻⁶

El estrés oxidativo ocupa cada vez más el interés de científicos a nivel mundial, debido a que estos procesos están involucrados en muchas de las enfermedades de mayor incidencia en todo el mundo, entre las que se encuentran el cáncer, las enfermedades cerebrovasculares, la diabetes mellitus y muchas otras.^{7-9.}

En el laboratorio del Hospital Militar Central "Dr. Luis Díaz Soto" (HMC) para estudiar los procesos oxidativos, se hace necesario establecer los intervalos de referencia. Este trabajo se propuso estandarizar los valores de referencia para algunos marcadores del estrés oxidativo y su evaluación en personal enfermo y sano.

MÉTODOS

Se seleccionaron 65 pacientes hipertensos con más de 10 años de padecer la enfermedad, 65 diabéticos con más de 5 años y 50 sujetos sanos. Se utilizó el método paramétrico en la estimación de valores de referencia,¹⁰ donde el número de individuos seleccionados para cada grupo homogéneo, debe ser de 30 como mínimo.

Se les realizó la entrevista y obtención de las muestras de sangre, procesadas por procedimientos normalizados de operación (PNO) establecidos en el departamento, el mismo día para cada una de las determinaciones realizadas; estas fueron:

MDA (malonilaldehído) como marcador de la peroxidación lipídica.

DC (dienos conjugados) como marcador de la peroxidación lipídica.

PAOP (productos avanzados de la oxidación de proteínas) como marcador del daño a proteínas (enzimas, receptores etc.)

OT (organoperóxidos totales) como marcador del daño de los componentes orgánicos celulares y generadores de ión hidroxilo.

Todas las determinaciones se realizaron con un espectrofotómetro uv-1700 *Pharma spec Shimadzu*. Se procesó una base de datos con utilización del paquete estadístico SPSS y se utilizaron estadígrafos descriptivos como media y desviación estándar para establecer los valores de referencias. Además se usó el paquete estadístico *Labtools*. Para determinar la existencia de significación estadística se utilizó la t de Student y para evaluar las diferencias de los valores de referencia reportados por ambos laboratorios, se definió la $p < 0,05$. Las comparaciones se realizaron con los del laboratorio del Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL). Los resultados obtenidos se reflejaron en tablas y gráficos para su presentación y discusión.

RESULTADOS

Los valores obtenidos para los sujetos normales aparecen reportados en la [tabla 1](#). En los parámetros determinados los valores se comportaron inferiores a los del IFAL, sin diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 1. Valores de referencias para sujetos sanos

Laboratorios	MDA	PAOP	OT	DC
HMC (n=50)	1,88±1,50	11,13±1,75	102,78±9,10	220,51±20,00
IFAL	1,74±0,27 (n=22)	12,13±0,93 (n=25)	103,78±17,74 (n=30)	235,2±69,9 (n=25)

En cuanto al comportamiento del rango de valores para los pacientes diabéticos se obtuvieron los resultados que aparecen en la [tabla 2](#), de igual manera el rango de valores se comportó por debajo de los valores de referencia del laboratorio del IFAL (este no reporta valores comparativos en el parámetro PAOP) e igualmente, sin diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 2. Valores de referencias para pacientes diabéticos

Laboratorios	MDA	PAOP	OT	DC
HMC (n= 65)	3,88±1,71	17,44±2,51	141,35±12,12	240,2±68,0
IFAL	3,103±0,938 (n=100)	No se reporta	145,43±14,54 (n=30)	274,4±77,2 (n=38)

En cuanto a los pacientes hipertensos, que padecían de esta enfermedad por más de 10 años, los valores de referencias encontrados no cuentan con estudio similar en otro centro de nuestro país, es por ello que no pudimos establecer ninguna comparación para estos tipos de pacientes, los resultados aparecen en la [tabla 3](#).

Tabla 3. Valores de referencias para pacientes hipertensos

Laboratorio HMC (n= 65)	MDA	PAOP	OT	DC
	4,40 ± 0,73	19,44 ± 1,94	144,20 ± 12,86	254,2 ± 43,4

DISCUSIÓN

Debido a que toda enfermedad existente posee un nivel de afectación oxidativa que viene dada por los mecanismos moleculares que intervienen en estos procesos, resulta de utilidad conocer los valores de estas variables frente a diferentes enfermedades, con el fin de diagnosticar correctamente y seguir la terapia más adecuada en los diferentes casos, como se ha realizado en estudios preliminares en el servicio de quemados y politrauma.¹¹⁻¹³

Los rangos de valores obtenidos en el estudio resultan similares a los de otro centro de investigación, a pesar de ser ligeramente menores. Los intervalos de referencia biológicos estimados por un laboratorio para una magnitud biológica dependen de

las características socio-biológicas de la población de referencia y la disponibilidad de un procedimiento de medida de calidad suficiente y de obtención, traslado y manipulación normalizado a tenor de la variabilidad premetroológica de la magnitud en estudio.

Se cumplieron los procedimientos utilizados, con los criterios de partición que permitieron la selección de individuos de referencia con grupos homogéneos, es decir, grupos en los que la variabilidad biológica interindividual sea la menor posible, con factores de variación de los que se sabe por la bibliografía que son suficientemente importantes como para dar lugar a particiones.¹⁰

La determinación de estos parámetros de estrés oxidativo y el cálculo del índice *redox* con valores de referencia en las poblaciones, la identificación de los daños a nivel endotelial, dará paso a estudios para trazar estrategias de prevención y tratamiento de los factores de riesgo para las enfermedades crónicas no transmisibles, que aumentan su comorbilidad y disminuyen el tiempo de vida profesionalmente útil en los individuos.

Se concluye que en el estudio se lograron establecer rangos de valores normales para sujetos sanos, hipertensos y diabéticos de PAOP, OT, MDA y DC, en la población de estudio, con el uso de tecnología disponible. Estos resultados pudieran ser aplicados tanto en la asistencia como en la investigación.^{14,15}

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no presentan conflictos de intereses.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fuhrman B, Lavy A, Aviram M. Consumption of red wine and meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *Am J Clin Nutr.* 1995;61(3):549-54.
2. Scandalios JG. The molecular biology of free radical scavenging systems. *Clairview, NY: Cold Spring Harbor Press;1992.*
3. Clapés Sonia, Torres Omaidá, Companioni M, Villariño U, Broche F, Céspedes EM. Peroxidación lipídica y otros indicadores de estrés oxidativo en pacientes diabéticos. *Rev Cubana Invest Bioméd [Internet].* jun 2001 [citado 17 abr 2017];20(2):3-98. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002001000200002&lng=es
4. Kuskoski E, Asuero M, Agustín G, Troncoso AM, Mancini-Filho J, Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology (Campinas).* 2005;25(4):726-32.
5. Delgado Roche L, Vázquez López AM, Martínez-Sánchez G. Procesos moleculares patogénicos de la aterosclerosis y alternativas terapéuticas para su control. *Rev Cubana Farm.* 2012;46(2):267-80.

6. González Gil A, González Madariaga Y, Heredia Ruiz D, Fernández Caraballo D, Ballesteros Hernández M. Enzimas antioxidantes en la hiperglicemia e hiperlipidemia inducida por sacarosa en ratas Wistar. *Rev Méd Electr.* 2013;35(2):95-104.
7. Ortega Freyre EG, Gracia C, Delgadillo Guzmán D, Intriago Ortega MP, Lares Bayona EF, Escorza Q. Asociación de la exposición ocupacional a plaguicidas organofosforados con el daño oxidativo y actividad de acetilcolinesterasa. *Rev Toxicol.* 2016;33(1):39-43.
8. Delgado Roche L, Regalado Haces D, Rivero Alén AL. Disrupción del ambiente redox sistémico en pacientes con enfermedad aterosclerótica. *Acta bioquímica clínica latinoamericana.* 2012;46(3):375-83.
9. Matos YH, Roche LD, González MR, Aportela RA. El estrés oxidativo: detonante fisiopatológico en la cardiomiopatía dilatada inducida por doxorubicina. *Revista Finlay.* 2011;1(3):214-20.
10. Fuentes Arderiu X. Intervalos de referencia biológicos1. *Noticonaquic.* 2011;54:46-51.
11. Rossi WM, Garrido G, Sellés AJN. Biomarcadores del estrés oxidativo en la terapia antioxidante. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research.* 2016;4(2):62-83.
12. Cildir G, Low KC, Tergaonkar V. Noncanonical NF- κ B signaling in health and disease. *Trends in molecular medicine.* 2016;22(5):414-29.
13. Rossi WM, Garrido G, Sellés AJN. Biomarcadores del estrés oxidativo en la terapia antioxidante. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research.* 2016;4(2):62-83.
14. Ito T, Fujita H, Tani T, Ohte N. Malondialdehyde-modified low-density lipoprotein is a predictor of cardiac events in patients with stable angina on lipid-lowering therapy after percutaneous coronary intervention using drug-eluting stent. *Atherosclerosis.* 2015;239(2):311-17.
15. Kim KS, Lee D, Song CG, Kang PM. Reactive oxygen species-activated nanomaterials as theranostic agents. *Nanomedicine.* 2015;10(17):2709-23.

Recibido: 22 de enero de 2018.

Aprobado: 16 de febrero de 2018.

Arteche Hidalgo Liuba. Universidad de Ciencias Médicas de las FAR, Ave 114 y 25, Marianao, La Habana, Cuba.

Correo electrónico: liubarteche@infomed.sld.cu