



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

RESPUESTA ANTIOXIDANTE DE LA ALBÚMINA EN INDIVIDUOS CON
SOBREPESO Y OBESIDAD
(Modalidad: tesis de grado)

Daniel Eduardo Veliz Arandia
Eleanny Del Carmen Durán Ramos

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOANÁLISIS

CUMANÁ, 2018

RESPUESTA ANTIOXIDANTE DE LA ALBÚMINA EN INDIVIDUOS CON
SOBREPESO Y OBESIDAD

APROBADO POR:

Dra. Raquel Salazar Lugo
Asesor

ÍNDICE

DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
LISTA DE TABLAS	v
LISTAS DE FIGURAS	vii
RESUMEN	viii
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	10
Muestra poblacional	10
Normas de bioética.....	10
Determinación de las variables antropométricas	10
Obtención de la muestra	11
Determinación de la concentración sérica de proteínas totales.....	11
Determinación de la concentración sérica de albúmina	12
Determinación de tioles solubles en ácido	12
Determinación de tioles totales.....	¡Error! Marcador no definido.
Tioles proteicos	14
Extracción de albúmina por cromatografía de afinidad iónica	15
Análisis estadístico	16
RESULTADOS	17
DISCUSIÓN	33
CONCLUSIONES	39
RECOMENDACIONES	40
BIBLIOGRAFÍA	41
HOJAS DE METADATOS	47

DEDICATORIA

Eleanny Durán

A mi Dios por ser la fuente de mis fuerzas, por darme siempre sabiduría, claridad y entendimiento, hoy más que nunca entiendo que sin ti no soy nada, gracias.

A mis padres William Durán y Matilde Ramos quienes con sus palabras de aliento no me dejaron decaer y siempre creyeron en mí. Son mi ejemplo de superación y humildad. Los amo por todo lo que representan en mi vida.

A mis abuelos Eloina Lachea y Luis Ramos por haberme dado calor y amor en su hogar, cuando decidí emprender esta hermosa meta. Los adoro.

A mi esposo Elvis Angarita por ser tan especial, por su apoyo y quien ha esperado con paciencia este momento tan importante en mi vida.

A mi hijo Máximo José por ser motivación y el motor de mi vida.

A mis compañeros Daniel Véliz, Carlos González, Omariemny Vera y Nicaulis Salas quienes lucharon junto a mí para alcanzar este sueño.

Daniel Véliz

Dedico este trabajo a Dios, a esa energía universal que me proporcionó la fuerza, motivación y serenidad necesaria para seguir adelante en los estudios a pesar de las adversidades, quien, además, a través de las mismas me ha permitido comprender el significado de la humildad, el respeto y el perdón.

A mi madre y padre a la vez, Elvia Arandia por apoyarme en la vida y en toda la carrera, a mis tíos Carlos Arandia, quien ha sido un padre para mí, por su apoyo y confianza, y Ricardo Arandia, por ayudarme en los momentos más difíciles.

A mi amigo y hermano Fernando González por apoyarme en los peores momentos, por ayudarme a superar mis límites y por sobre todas las cosas, mostrarme, siempre, el lado positivo de las cosas.

A todas mis amistades y compañeros de la carrera, quienes de alguna u otra manera me ayudaron y motivaron para alcanzar este sueño.

A mi compañera Eleanny Durán, por emprender a mi lado, uno de los objetivos más importantes en mi vida, gracias, por el apoyo, comprensión y motivación durante la ejecución de este proyecto.

Y a todas aquellas personas que luchan día a día por salir adelante a pesar de las dificultades.

AGRADECIMIENTOS

A

Nuestra Universidad de Oriente, por habernos permitido formarnos en ella.

La Dra. Raquel Salazar por su dedicación, compromiso y asesoramiento, pieza clave para culminar satisfactoriamente este trabajo de investigación.

Las profesoras Yanet Antón y Patricia Velásquez, por su gran ayuda, disponibilidad y colaboración en todo momento.

El laboratorio de Proteínas e Inmunotoxicidad del Postgrado de Biología Aplicada del Núcleo de Sucre de la Universidad de Oriente.

A los profesores, que a lo largo de nuestra carrera universitaria constituyeron un pilar importante en la construcción de saberes que fueron complementarias para culminar este trabajo de grado.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Valores promedios de los parámetros bioquímicos obtenidos en los adultos clasificados nutricionalmente, como normopeso, sobrepeso y obesidad, pertenecientes a la ciudad de Cumaná, estado Sucre.....	17
Tabla 2. Valores promedios de los marcadores de estrés oxidativo en adultos clasificados de acuerdo al estado nutricional, según el índice de masa corporal (IMC), pertenecientes a la ciudad de Cumaná, estado Sucre.	18
Tabla 3. Valores promedios de los marcadores de estrés oxidativo en adultos con normopeso y sobrepeso, según el Índice de Masa Corporal (IMC), pertenecientes a la ciudad de Cumaná, estado Sucre.....	19
Tabla 4. Valores promedios de los marcadores de estrés oxidativo en adultos con normopeso y obesidad, según el índice de masa corporal (IMC),, pertenecientes a la ciudad de Cumaná, estado Sucre.....	20
Figura 3. Concentración de la albúmina purificada, mediante cromatografía de afinidad iónica, para cada eluato obtenido (A). Concentración de grupos tioles asociados a la albúmina purificada en los últimos cuatro eluatos (B).	23
Tabla 5. Valores promedios de los tioles ligados a la albúmina en adultos con normopeso y sobrepeso, según el índice de masa corporal (IMC), pertenecientes a la ciudad de Cumaná, estado Sucre.....	24
Tabla 6. Valores promedios de los tioles ligados a la albúmina en adultos con normopeso y obesidad, según el índice de masa corporal (IMC), pertenecientes a la ciudad de Cumaná, estado Sucre.	24
Tabla 7. Valores promedios de marcadores de estrés oxidativo en adultos con normopeso y sobrepeso, según el índice de masa corporal (IMC), y el control positivo, pertenecientes a la ciudad de Cumaná, estado Sucre.....	27
Tabla 8. Valores promedios de marcadores de estrés oxidativo en adultos con normopeso y obesidad, según el índice de masa corporal (IMC), y control positivo, pertenecientes a la ciudad de Cumaná, estado Sucre.....	28
Tabla 9. Valores promedios de albúmina, tioles ligados a la albúmina y	

porcentaje de a tioles ligados a la albúmina en adultos con normopeso y sobrepeso, según el Índice de Masa Corporal (IMC), y control positivo, pertenecientes a la ciudad de Cumaná, estado Sucre..... 30

Tabla 10. Valores promedios de albúmina, tioles ligados a la albúmina y porcentaje de a tioles ligados a la albúmina en adultos con normopeso y obesidad, según el índice de masa corporal (IMC), y control positivo, pertenecientes a la comunidad de Cumaná, estado Sucre..... 31

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1. Concentración de Tioles totales en los grupos nutricionales normopeso y obesidad, pertenecientes a la comunidad de Cumaná, estado Sucre.....	21
Figura 2. Absorbancias de la albúmina purificada por cromatografía de afinidad iónica y de los tioles ligados a la albúmina.	22
Figura 4. Concentración de tioles ligados a la albúmina purificada (A) y porcentaje de tioles ligados a la albúmina purificada (B) en adultos con normopeso y obesidad, según el Índice de Masa Corporal (IMC), pertenecientes a la comunidad de Cumaná, estado Sucre.	25
Figura 5. Concentración de tioles totales en adultos con normopeso, obesidad y control positivo, pertenecientes a la comunidad de Cumaná, estado Sucre.	29
Figura 6. Concentración de tioles ligados a la albúmina purificada (A) y porcentaje de los tioles ligados a la albúmina (B) en adultos con normopeso, obesidad y control positivo, pertenecientes a la comunidad de Cumaná, estado Sucre.....	32

RESUMEN

En el presente estudio se evaluó la respuesta antioxidante de la albúmina, en individuos con sobrepeso y obesidad pertenecientes a la ciudad de Cumaná, estado Sucre, se estudiaron 40 individuos clasificados según el índice de masa corporal (IMC) con edades comprendidas entre 21 y 60 años, de sexo femenino y masculino, para valorar el estado nutricional, las personas fueron medidas y pesadas. Se determinó además los niveles de proteínas totales (PT) y albúmina (ALB) en suero como marcadores de estrés oxidativo, posteriormente se determinó las concentraciones de grupos tioles totales (TT), tioles proteicos (TP) y tioles solubles en ácido (TSA) y se realizó la purificación y cuantificación de la albúmina y de los tioles unida a ella, así como las relaciones entre los tioles y albúmina purificada. Se encontró una disminución significativa de los tioles ligados a la albúmina en el grupo de personas obesas en más del 50%, así mismo se hallaron valores elevados de tioles totales y tioles proteicos en el grupo obesidad. Lo que sugiere que el organismo parece estar respondiendo a esta oxidación de la albúmina incrementando los tioles totales, probablemente a expensas de otras proteínas plasmáticas y de pequeñas moléculas ricas en grupos tioles. Los resultados indican que la exposición crónica a daño oxidativo como es el caso de la obesidad, es capaz de disminuir la cantidad de tioles oxidables en la albúmina y es bastante probable que esta condición pueda sobrepasar la capacidad de recuperación de la molécula llevándola a daño oxidativo permanente.

INTRODUCCIÓN

La obesidad se ha convertido en uno de los principales problemas de salud es responsable de disminuir la calidad y esperanza de vida de muchas personas, es una realidad social, observada tanto en países desarrollados como subdesarrollados, que afecta a niños, adolescentes y adultos; constituye el desorden nutricional de mayor frecuencia a nivel mundial, cuyo acelerado incremento, en cuanto a incidencia y prevalencia en los últimos 30 años, ha conllevado a ser planteada, por la Organización Mundial de la Salud (OMS), como la pandemia del siglo XXI que, actualmente, afecta cerca del 30% de la población mundial, estimándose para el año 2030 un alcance aproximado del 50% de la población (Soca y Peña., 2009; Basain y cols., 2017; Fernadez y cols., 2018).

La obesidad es un trastorno crónico, inflamatorio y metabólico no transmisible ocasionado por un desequilibrio positivo del balance energético, producto, de la excesiva ingesta calórica y/o disminución del gasto energético, donde además, intervienen diversos factores individuales como la fisiología, genética, metabolismo, cultura y condiciones socioeconómicas, conllevando al almacenamiento de la energía sobrante a nivel del tejido adiposo blanco, en forma de grasa que, a su vez, provoca la hiperplasia y/o hipertrófia de los adipocitos y con ello el aumento de peso corporal (Braguinsky, 2002; Blancas y cols., 2009; Basain y cols., 2017; Fernández y cols., 2018). Dicho trastorno, se encuentra asociado al estrés oxidativo, un estado de estrés celular causado por la pérdida del equilibrio entre los agentes oxidantes y el sistema antioxidantes del organismo, a favor de los primeros, como consecuencia del incremento acelerado de sustancias oxidantes y/o la disminución de la capacidad protectora de los agentes antioxidante (Chihuailaf y cols., 2002; Barbosa y cols., 2008; Fernández y cols., 2011; Corrales y Muñoz, 2012).

Las especies reactivas o agentes oxidantes son sustancias naturales sintetizadas en el organismo de manera continua como parte del metabolismo celular, las cuales, participan en diversas actividades fisiológicas como la síntesis de prostaglandinas y colágeno, el crecimiento celular, sistema de señalización intracelular y la eliminación de patógenos por fagocitosis; sin embargo, a pesar de sus efectos beneficiosos, en condiciones normales, el sistema antioxidante, limita su formación, teniendo en cuenta su elevada reactividad y capacidad de generar graves daños celulares que pueden afectar el adecuado funcionamiento de diferentes órganos (Chihuailaf y cols., 2002; Zamora, 2007; Barbosa y cols., 2008; Corrales y Muñoz, 2012; Sánchez y Méndez, 2013). Estas especies incluyen dos tipos de estructuras: los radicales libres y las sustancias no radicales; los primeros, consisten en átomos y moléculas que tienen uno o más electrones desapareados en su último orbital haciéndolos, altamente, reactivos e inestables, mientras las especies reactivas no radicales incluyen aquellas sustancias que favorecen a incrementar la síntesis de los radicales libres (Gutiérrez, 2002; Dorado y cols., 2003).

Los radicales libres, buscando alcanzar una configuración electrónica estable, arrebatan de aquellas biomoléculas: carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, con las cuales interaccionan, los electrones que requieren, convirtiéndolas, a su vez, en nuevas moléculas inestables y reactivas; una reacción en cadena que daña a las células desde el punto de vista oxidativo (Dorado y cols., 2003). Existen diferentes tipos de especies reactivas según su núcleo funcional, el cual puede estar conformado por átomos de oxígeno, nitrógeno, azufre, hierro, entre otros; siendo las del oxígeno, las comúnmente formadas, dada la participación de este elemento en el proceso aeróbico celular; las especies reactivas del oxígeno incluyen, a su vez, al anión superóxido, oxígeno singlete, derivados de compuestos orgánicos (peroxilo y alcoxilo), peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo, siendo este último uno de los radicales libre de mayor reactividad y por tanto, con mayor capacidad lesiva

(Guerra, 2001; Chihuailaf y cols., 2002; Ramos y cols., 2006).

Sus principales fuentes endógenas son las mitocondrias, peroxisomas, xantina deshidrogenasa, los fagocitos (monocitos-macrófagos y neutrófilos) y el sistema enzimático citocromo P-450; su excesiva y descontrolada síntesis puede ser promovida por factores exógenos como el medio ambiente contaminado, humo del cigarrillo, radiaciones (rayos X y ultravioleta), hiperoxia, alimentos hipercalóricos y microorganismos; así como también, por ciertas condiciones patológicas como los procesos inflamatorios, traumatismos y fenómenos de isquemia-reperfusión (Rodríguez y cols., 2015; Chihuailaf y cols., 2002; Zamora, 2007; Sánchez y Méndez, 2013).

El tejido adiposo, además, de almacenar energía, es considerado un órgano endocrino, en el cual, los adipocitos y pre-adipocitos sintetizan y secretan interleucinas pro-inflamatorias responsables de estimular al sistema monocito-macrófago, a formar especies reactivas del oxígeno; las personas obesas, al tener un excesivo tejido graso, tiende a incrementar la formación de estas especies; algunas de estas citocinas son el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α , por sus siglas en inglés) y las interleucinas 1 y 6 (IL-1 e IL-6), que también pueden ser liberadas ante lesiones estructurales de los adipocitos, debido a su elevada presión intracelular por el excesivo contenido de grasas. Otros de los mecanismos, a través de los cuales la obesidad promueve el incremento de estos oxidantes son: la secreción de angiotensina II por los adipocitos, la cual promueve la actividad de la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidasa, enzima considerada como la principal ruta de estas células para formar especies reactivas del oxígeno; el incremento del consumo de oxígeno, como consecuencia de la gran carga mecánica que representa la obesidad para el cuerpo y el elevado metabolismo del miocardio; así como también, la susceptibilidad de los lípidos, almacenados en los adipocitos, a sufrir oxidación (peroxidación) pudiendo rebasar la capacidad

protectora del sistema antioxidante (Fernández y cols., 2011).

Los antioxidantes, agentes encargados de proteger al organismo contra los daños oxidativos, son sustancias que estando a bajas concentraciones en comparación al sustrato oxidable, retrasan o inhiben su oxidación (Rodríguez y cols., 2015; Dorado y cols., 2003). Tales agentes trabajan en conjunto, conformando al sistema antioxidante, cuya naturaleza puede ser enzimática y no enzimática, también conocidos, respectivamente, como endógenos (formados en el organismo) y exógenos (proveniente de la dieta); su lugar de acción incluye al espacio extracelular (plasma) e intracelular; trabajando, además, de manera integrada para ejercer un mayor efecto sobre los radicales libres (Chihuailaf y cols., 2002; Ramos y cols., 2006; Zamora, 2007).

Este sistema protector puede ser clasificado, según su actividad, dando origen a tres líneas defensivas contra las especies reactivas; la primera línea, preventiva, cuenta con procedimientos para bloquear su formación, dentro de los cuales las proteínas ejercen una importante actividad, como el secuestro de metales de transición, especialmente, hierro y cobre, los cuales son potentes generadores de especies reactivas del oxígeno; algunas de estas proteínas son la ferritina, transferrina, ceruloplasmina y albúmina (González y cols., 2000; Roche y cols., 2008).

La segunda línea, depura o elimina aquellas especies reactivas (radicales libre y no radicales) que han sido formadas y para ello, cuenta con estructuras enzimáticas como la superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa, las cuales, catalizan la transferencia de electrones a partir de determinados sustratos oxidables hacia radicales libres; de igual modo, cuenta con moléculas no enzimáticas con características hidrofílicas e hidrofóbicas encargadas de capturar y trasladar especies reactivas hacia espacios celulares donde no generen graves daños o de transformarlas en sustancias de menor agresividad;

alguno de los antioxidantes hidrofílicos son la vitamina C, el glutatión, ácido úrico y la bilirrubina, mientras que los hidrofóbicos incluyen a la vitamina E, ubiquinonas y carotenoides (Céspedes y Sánchez, 2000; González y cols., 2000).

La tercera línea defensiva, se encarga de remover y reparar las biomoléculas lesionada de forma oxidativa, contando para ello con enzimas como la metionina sulfóxido reductasa, glutatión peroxidasa y glutatión reductasa (Céspedes y Sánchez, 2000; Núñez, 2011). El sistema antioxidante también involucra la participación de ciertos oligoelementos como el zinc (Zn), selenio (Se) y manganeso (Mn), los cuales, además, de ser elementos estructurales de sus enzimas, también actúan como activadores de las mismas y ejercen efectos antioxidantes de forma independiente (Chihuailaf y cols., 2002; Mayor, 2011).

El compartimiento intravascular, un espacio expuesto, de forma continua, al estrés oxidativo cuenta con la albúmina, una proteína multifuncional, sintetizada por el hígado y secretada directamente a la sangre que, además de mantener la presión coloidosmótica, transportar diversos compuestos y suministrar aminoácidos en periodos de desnutrición, actúa como antioxidante, propiedad estrechamente, relacionada con su estructura molecular, la cual le permite capturar radicales libres y unir diversos ligandos, sean iones o moléculas (Kawakami y cols., 2006; Roche y cols., 2008; Taverna y cols., 2013; Aguirre y cols., 2014).

La albúmina es la proteína sanguínea de mayor concentración, cuyo valor normal oscila entre 3.5-5.0 g/dl, representando el 60% de las proteínas totales circulantes; consiste en un polipeptido de 66 kDa, no glicosilado, altamente soluble y de fuerte carga negativa, conformado por un 67% alfa hélice y sin láminas betas, presenta tres dominios homólogos (I, II y III), cada uno, con dos sub dominios (A y B), de elementos estructurales comunes, conformados,

respectivamente, por 4 y 6 alfa hélices; mientras los dominios proporcionan diferentes sitios de unión, la flexibilidad de los subdominios, concedida por bucles flexibles generados por residuos de prolina, le permiten a la albúmina adaptarse con facilidad a los diferentes ligandos (Quilan y cols., 2005; Roche y cols., 2008; Turell y cols., 2009; Sancataldo y cols., 2014).

Está conformada por 585 aminoácidos que, incluyen 1 triptófano, 6 metioninas, 18 tirosinas y 35 residuos de cisteína de los cuales 34 residuos participan en la formación de 17 puentes disulfuros, importantes para la estabilidad de la estructura y flexibilidad de la proteína, mientras, un solo residuo, específicamente, la cisteína 34 (Cys34), ubicado en la región hidrofóbica del dominio I, proporciona un grupo tiol o sulfhidrilo (-SH) libre (Quilan y cols., 2005; Turell y cols., 2009; Sancataldo y cols., 2014; Plantier y cols., 2016).

Cumple un tiempo de vida media aproximado de 21 días y circula en el espacio intravascular en un periodo de aproximadamente 16 horas (Turell y cols., 2009; Aguirre y cols., 2014). De acuerdo, a su estado redox, circula como una mezcla de albúmina reducida y oxidada; la mercaptoalbúmina o forma reducida, representa el 70-80% de esta mezcla y se caracteriza por su grupo tiol del residuo Cys34 en estado reducido (Kawakami y cols., 2006; Roche y cols., 2008). La no mercaptoalbúmina o forma oxidada, constituye la porción restante e incluye aquellas moléculas de albúmina que presentan diferentes grados de oxidación en el grupo tiol del residuo Cys34 que, pueden ir de estados reversibles hasta formas irreversibles; las formas reversibles, incluyen los disulfuros mixtos, donde el residuo Cys34 se encuentra formando enlaces con tioles de compuestos con bajo peso molecular como la cisteína, homocisteína o glutatión (-SSR), y el ácido sulfénico (-SOH); mientras la forma irreversible presenta mayores grados de oxidación que van desde ácido sulfínico (SO₂H) hasta ácido sulfónico (-SO₃H) (Kawakami y cols., 2006; Turell y cols., 2009; Taverna y cols., 2013).

La elevada concentración de albúmina, permite considerarla como la principal fuente extracelular de grupos tioles, la cual proporciona, a través, de la mercaptoalbúmina, el 80% de los tioles totales en plasma; dicho grupo, es un potente secuestrador de especies reactivas del oxígeno que, al estar libre, sin formar puentes disulfuros, puede reaccionar con el peróxido de hidrógeno, anión superóxido, ácido hipocloroso y radicales hidroxilos para neutralizar su efecto dañino, esta reacción, a su vez, conlleva a la oxidación del tiol, convirtiéndolo en ácido sulfénico, un intermediario central en la modulación redox, reversible por especies reactivas debido a su capacidad para formar enlaces disulfuros con el grupo tiol de compuestos de bajo peso molecular, permitiendo el retorno de la no mercaptoalbúmina a mercaptoalbúmina y por ende, recuperar sus propiedades antioxidantes (Roche y cols., 2008; Taverna y cols., 2013; Tovati y cols., 2013).

La metionina, al igual que la cisteína, contienen azufre y es susceptible a la oxidación por una amplia variedad de oxidantes dando como resultado la formación de metionina sulfóxido, la cual puede retornar a su estado original por medio de reductores como la metionina sulfóxido reductasa; su ciclo de oxidación y reducción proporciona un sistema de eliminación de especies reactivas del oxígeno que protegería a la albúmina de extensas e irreversibles modificaciones (Roche y cols., 2008; Iwao y cols., 2012). Según Taverna y cols. (2013), los residuos de cisteína y metionina proporcionan entre el 40-80% de la función antioxidante de la albúmina, responsables, a su vez de, más del 70% de la captura de radicales libres en la sangre.

Otras de las funciones antioxidante de la albúmina se basa en su capacidad de unión con los diversos ligandos, siendo los cationes hierro (Fe^{2+}) y cobre (Cu^{2+}), los metales de transición de mayor importancia, al ser potentes catalizadores de radicales hidroxilos, luego de reaccionar con el peróxido de hidrógeno (reacción de Fenton); el cobre, especialmente, puede formar

radicales hidroxilos, 60 veces más rápido, en comparación al hierro, aun cuando, se encuentra en menor cantidad; a pesar de que, la mayor parte del cobre está unido a la ceruloplasmina, la albúmina puede capturar una gran parte, gracias a al sitio de unión de su extremo N-terminal conformado por los cuatro primeros aminoácidos Asp-Ala-His-Lys, contribuyendo a limitar su biodisponibilidad para la reacción de Fenton (Roche y cols., 2008; Taverna y cols., 2013).

Según, Roche y cols. (2008) y Sitar y cols. (2013), los ensayos de oxidación de lipoproteínas de baja densidad inducida por cobre, demuestran que la unión de la albúmina a dicho metal conlleva a inhibir la peroxidación lipídica de la lipoproteína, además, de mostrar una actividad semejante a la enzima superóxido dismutasa al disminuir la formación de especies reactivas del oxígeno, pueden actuar, indirectamente, como antioxidante al unirse, a través, de su residuo Lys240 con la bilirrubina no conjugada, permitiéndole a esta última, inhibir la peroxidación lipídica, proteger el α -tocoferol del daño por radicales peroxilo y extender la resistencia de los miocitos al estrés oxidativo (Roche y cols., 2008; Levitt y Levitt, 2016). De igual modo, limita la disponibilidad de homocisteína al unir, aproximadamente, el 80% de este aminoácido azufrado circulante en la sangre, teniendo en cuenta que, durante su auto-oxidación se genera peróxido de hidrógeno y aniones superóxido e hidroxilo, responsables de la peroxidación lipídica, especialmente, de las lipoproteínas de baja densidad (Menéndez y Fernández, 1999; Chaves y Salazar, 2001; Roche y cols., 2008).

Por si fuera poco, la degradación de la albúmina ejerce un efecto beneficioso sobre el estrés oxidativo, al proporcionar aminoácidos que contienen azufre, necesarios para la síntesis de moléculas con grupos tiol como la glutatona, un agente reductor con la capacidad de donar electrones a sustancias oxidadas tales como los radicales libres (Benítez, 2006; Taverna y cols., 2013).

En esta investigación se evaluó la respuesta antioxidante de la albúmina en individuos con sobrepeso y obesidad, pertenecientes a la ciudad de Cumaná, estado Sucre, en búsqueda de información que permitiera asociar los niveles de la albúmina sérica reducida (mercaptoalbúmina) a situaciones que cursen con un estado de estrés oxidativo, en este caso particular, la obesidad; ya que en nuestro país, son pocos los trabajos que abordan patologías, desde el punto de vista oxidativo, por lo que fue necesario indagar y comprender a profundidad el comportamiento protector antioxidante de la proteína más abundante en la sangre, para así, aportar conocimientos que sirvan de herramienta para crear e implementar futuras terapias preventivas y diagnósticas de la obesidad y sus complicaciones.

METODOLOGÍA

Muestra poblacional

El grupo de estudio incluyó 45 individuos, los cuales fueron clasificados según el IMC como: normopeso (considerado grupo control), sobrepeso y obesos, y 5 individuos con diabetes (considerado grupo control positivo) pertenecientes a la ciudad de Cumaná, estado Sucre, con edades comprendidas entre 21 y 60 años, de sexo femenino y masculino (35 mujeres 72,5% y 15 hombres 27,5%).

Normas de bioética

El presente estudio se realizó siguiendo los criterios de ética establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para trabajos de investigación en humanos, siguiendo además las normas de ética establecidas en la declaración de Helsinki, por la Asociación Médica Mundial (2014) y cumpliendo los lineamientos establecidos por el ministerio del poder popular para la educación universitaria, ciencias y tecnología. se les solicitó a los pacientes su autorización por escrito, mediante la firma de un consentimiento informado en el cual se les informó de manera clara y correcta sobre los objetivos de la investigación y procedimientos metodológicos a aplicar en el estudio, para su participación en la investigación (anexo 1). Además, se aplicó una encuesta, la cual fue validada previamente para la recolección de la información sociodemográfica (datos personales, nivel de instrucción, estado civil y lugar de residencia), estilo de vida (fumador, consumo de alcohol, actividad física y alimentación), vigilancia epidemiológica (patologías presentes en ellos o sus familiares directos) y nivel socioeconómico de la familia (anexo 2).

Determinación de las variables antropométricas

Para valorar el estado nutricional, las personas del estudio fueron pesadas de pie y sin zapatos, con una balanza de bioimpedancia y medidas con una cinta

métrica (de 0 a 200 cm y precisión de un milímetro). Los datos proporcionados permitieron obtener el índice de masa corporal (IMC), mediante la siguiente fórmula:

$$IMC = (PESO (Kg)) / (Altura (m)^2)$$

El estado nutricional se determinó mediante los criterios establecidos en las tablas de IMC de la OMS (1995), la cual plantea los siguientes puntos de corte: < 18,5 = bajo peso; 18,5 a 24,9 = normal; 25,0 a 29,9 = sobrepeso; 30,0 a 34,9 = obesidad I; 35,0 a 39,9 = obesidad II; ≥ 40,0 = obesidad III.

Obtención de la muestra

Una vez que las personas fueron evaluadas antropométricamente se procedió a extraer una muestra de sangre. Para esto, a cada paciente en condición de ayuno de 12 horas se le extrajo con previa asepsia de la región antecubital del brazo, y mediante la técnica de venopunción, 10 ml de sangre con jeringa estéril descartable, los cuales fueron transferidos a dos tubos de ensayo secos y estériles (5ml en cada uno), estos se dejaron en reposo por un periodo de tiempo de 10 a 15 minutos, necesarios para la formación y retracción del coágulo; al cabo del cual fueron centrifugadas por 10 minutos a 4 000 rpm en una centrífuga marca Dynac, Clay Adams Brand modelo 420101 para la obtención del suero sanguíneo, posteriormente fue separado con micropipetas y trasvasado a tres tubos de plástico Eppendorf, almacenados a -20°C, hasta la determinación de los parámetros bioquímicos (proteínas totales, albúmina y globulinas), marcadores de estrés oxidativo (tioles totales, tioles solubles en ácido y tioles ligados a la albúmina) y purificación parcial de la albúmina.

Determinación de la concentración sérica de proteínas totales (PT)

Se determinó por el método de Biuret, cuyo principio se basa en la reacción que experimentan las proteínas, por sus uniones peptídicas, con los iones cúpricos

presentes en el reactivo de Biuret; cada ion cobre se unió a la cadena polipeptídicas por 4 enlaces de coordinación, aportados por pares electrónicos libres de átomos de nitrógeno, para dar lugar a la formación de un complejo color purpura-violeta con un máximo de absorción a 540nm, cuya intensidad es proporcional a la concentración de proteínas totales en la muestra.

Para la determinación de proteínas totales en suero, se colocaron 20µl de muestra con 1,0ml de reactivo, se mezcló bien y se dejaron los tubos durante 10 minutos a temperatura ambiente, posteriormente, se leyó la absorbancia del patrón y de la muestra, frente a un blanco a 545nm. Valores de referencia: suero: 6,30-8,50g/dl (Doumas y cols., 1981; Balcells, 1997).

Determinación de la concentración sérica de albúmina (ALB)

Para la cuantificación de esta fracción proteica se aplicó el método del verde de bromocresol, cuyo principio consiste en la reacción que experimenta la albúmina cuando se une al indicador verde del bromocresol a un pH ácido adecuado, para formar un complejo coloreado, cuya intensidad a 540nm, es proporcional a la concentración de albúmina presente en la muestra.

Para determinar la concentración de la albúmina sérica se colocaron 10 µl de la muestra y 1,0ml de reactivo, se mezclaron bien y se dejaron los tubos durante 1min a temperatura ambiente, posteriormente, se leyó a 630nm, la absorbancia del patrón y de la muestra frente a un blanco reactivo. Valores de referencias: suero: 3,50-5,10 g/dl (Kaplan y Pesce, 1991; Bernard, 1994).

Determinación de tioles solubles en ácido (TSA)

La determinación de los tioles solubles en ácido se realizó a partir del protocolo de Sedlak y Lindsay. (1968), con modificaciones de Velásquez (2014). Esta técnica se fundamenta en que los grupos tioles libres (-SH) presentes en muestras proteicas pueden ser separados de las proteínas; para esto se utiliza la precipitación ácida de proteínas, previo a la cuantificación de los grupos tioles. Para ello, se preparó una solución amortiguadora compuesta por Tris-ácido clorhídrico (HCl) y EDTA de concentración 30 y 3 mmol/l,

respectivamente, ajustado a un pH de 8,20. El reactivo de trabajo ácido 5,5'ditiobis-2-nitrobenzoico (DTNB), se preparó disolviendo 29,7 mg de DTNB en 25 ml de metanol puro (Sedlak y Lindsay, 1968).

Para determinar los tioles solubles se procedió a realizar una dilución 1/50 con 20 μ l de suero sanguíneo y 980 μ l de agua destilada, seguidamente se añadieron 250 μ l de esta dilución a otro tubo de ensayo con 50 mg de ácido sulfosalicílico; esta mezcla fue llevada al congelador por 15 minutos, transcurrido este tiempo fue centrifugado durante 10 minutos a 7000 rpm a 4°C. Se tomaron 200 μ l del sobrenadante y se le agregó 800 μ l de Tris HCl a un pH de 8,20 y 80 μ l de DTNB, para ser medidos de manera inmediata en un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 25/35/45 UV/Vis a 412 nm.

La concentración sérica de los TSA se calculó mediante de una curva de calibración preparada con cisteína hidrociorada (175,64 g/mol) como estándar, para esto se preparó una solución patrón de cisteína hidrociora 100 μ mol/l en agua destilada, a partir de esta se prepararon patrones de 0,10; 0,25; 0,50; 0,75; 1,0; 1,5; 2,5 μ mol/l (apéndice 1). El análisis de cada muestra se realizó por duplicado y los resultados fueron expresados en μ mol/l. No hay valores de referencia determinados, por lo que se establecieron con el grupo control.

Determinación de tioles totales (TT)

Se realizó utilizando el método de Ellman, que se fundamenta en la propiedad del reactivo Ellman (ácido 5,5'-ditiobis 2-nitrobenzoico) de oxidar los grupos tioles (SH) libres, interaccionando con el grupo tiol, para dar ácido tionitrobenzoico en una reacción equimolar para cada residuo de cisteína en una solución estabilizadora de dihidrogenofosfato de sodio. Es una reacción cuantificable que mide el número de cisteína presente en una muestra. Como resultado se obtiene la formación de un complejo amarillo que absorbe luz en la región visible del espectro, con máxima absorción a una longitud de onda de

412 nm. Para ello se debe preparar una solución amortiguadora compuesta por Tris HCl-EDTA, de concentración 30 y 3 mmol/l, ajustada a un pH de 8,20 (Ellman, 1959; Sedlak y Lindsay, 1968).

Se realizó una dilución 1/10 con 100 µl del suero sanguíneo y 900 µl de agua destilada, posteriormente a cada tubo de ensayo se les añadió 38 µl de la dilución del suero sanguíneo, 144 µl de la solución amortiguadora Tris HCl-EDTA, 770 µl de metanol y 48 µl de DTNB; una vez mezclada, se dejó reposar por 5 minutos a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, se centrifugó a 3000 rpm durante 5 minutos a 4°C. Finalmente, se obtuvo el sobrenadante para la determinación de los grupos tioles, espectrofotométricamente, a una absorbancia de 412 nm.

La concentración sérica de los TT se calculó mediante una curva de calibración preparada con cisteína hidrociorada (175,64 g/mol) como estándar; para esto se preparó una solución patrón de cisteína hidrociora 100 µmol/l en agua destilada y a partir de esta se prepararon patrones de 2,5; 5; 10; 15; 25; 50 µmol/l (apéndice 3). El análisis de cada muestra se realizó por duplicado y los resultados fueron expresados en µmol/l de SH. No hay valores de referencia determinados, por lo que se establecieron con el grupo control (apéndice 2).

Tioles proteicos (TP)

Este grupo de moléculas se obtuvo como el resultado de la resta del valor de los tioles solubles en ácidos al valor de tioles totales; según la fórmula:

$$TP = TT - TSA$$

Ya que, en efecto, tanto los TSA como los tioles proteicos conforman el grupo total de tioles.

El porcentaje de tioles proteicos se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$\%TP = TP / (TT) \times 100$$

Extracción de albúmina por cromatografía de afinidad iónica

Se realizó para la obtención de la albúmina parcialmente purificada en individuos seleccionados al azar comprendiendo: 5 individuos con normopeso, 10 individuos con sobrepeso, 10 individuos con obesidad y 5 individuos con diabetes.

Inicialmente se prepararon dos soluciones buffer, una a pH 3 y otra a pH 7. El buffer pH 3 se preparó mezclando ácido cítrico 50mM y fosfato de sodio 100mM, empleando ácido clorhídrico para ajustar el pH, por otro lado, el buffer pH 7 se preparó mezclando fosfato de potasio 50mM y cloruro de potasio 1,5M, utilizando hidróxido de sodio para ajustar el pH.

La purificación de la albúmina se llevó a cabo en columnas de cromatografía, para ello a cada una se les realizó 5 lavados con solución buffer pH 7, dejándolas reposar con dicha solución por 24 horas. Posteriormente se agregó 100µm de la muestra de suero sanguíneo en cada columna, una vez pasada la muestra se procedió a pasar una solución buffer pH 3 para luego recoger 10 eluatos de 1ml cada uno en tubos de ensayos secos y estériles. Una vez obtenida la albúmina por cromatografía, se le cuantificó la concentración de tioles ligados a la albúmina (TLALB) empleando la metodología de tioles totales (Raoufinia y cols., 2016; Sanabria, 2018).

El porcentaje de tioles ligados a la albúmina (TLALB) se determinó mediante la siguiente formula:

$$\%TLALB = TLALB/TP \times 100$$

Análisis estadístico

Se empleó un análisis de varianza simple (F) para comparar los parámetros bioquímicos entre los grupos evaluados; en caso de que los datos no cumplieran con los criterios de normalidad y homogeneidad se emplearon las pruebas no paramétricas Kruskal Wallis (K-W) para comparación de medianas en tres muestras y Mann Whitney (Wilcoxon) para comparación de las medianas de dos muestras. Se escogió un nivel de significancia de 95%.

RESULTADOS

En la tabla 1, se muestran los valores promedios de los parámetros bioquímicos obtenidos en los adultos clasificados nutricionalmente, como normopeso, sobrepeso y obesidad. Al evaluar los niveles séricos de proteína totales, albúmina y globulinas en tales grupos, no se observaron diferencias, estadísticamente, significativas para las concentraciones de estos parámetros. (PT, $F=0,78$; $P=0,47$; ALB, $F=2,39$; $P=0,11$; GLOB, $F=0,65$; $P=0,53$ y ALB/GLOB, $KW=1,18$; $P=0,55$).

Tabla 1. Valores promedios de los parámetros bioquímicos estudiados en adultos clasificados de acuerdo al estado nutricional, según el índice de masa corporal (IMC), pertenecientes a la ciudad de Cumaná, estado Sucre.

PARÁMETRO BIOQUÍMICOS	Diagnostico nutricional			Valor de referencia	P
	Normopeso $\bar{X} \pm DE$ (mín-máx) n=15	Sobrepeso $\bar{X} \pm DE$ (mín-máx) n=15	Obesidad $\bar{X} \pm DE$ (mín-máx) n=15		
Proteínas totales (g/dl)	6,67 $\pm$ 0,59 (5,6-7,4)	6,95 $\pm$ 0,64 (5,7-7,8)	6,75 $\pm$ 0,52 (5,8-7,8)	6,50-8,00	0,47
Albúmina (g/dl)	4,13 $\pm$ 0,39 (3,6-4,7)	4,21 $\pm$ 0,38 (3,3-4,7)	3,88 $\pm$ 0,48 (3,2-4,9)	3,50-4,80	0,11
Globulinas (g/dl)	2,54 $\pm$ 0,74 (0,9-3,5)	2,74 $\pm$ 0,66 (1,4-3,9)	2,87 $\pm$ 0,71 (1,9-4,6)	2,60-3,10	0,53
Relación albúmina/globulinas	1,92 $\pm$ 1,22 (1,09-5,22)	1,66 $\pm$ 0,58 (0,85-3,29)	1,46 $\pm$ 0,47 (0,7-2,23)	1,20-2,20	0,55

* $P < 0,05$ estadísticamente significativo; $\bar{X}$: media; DE: desviación estándar; min: valor mínimo; max: valor máximo; n: número de muestra.

Sin embargo, al comparar los valores promedios de los parámetros, empleados para determinar estrés oxidativo, en los grupos evaluados nutricionalmente (tabla 2), se encontraron diferencias, estadísticamente, significativas para la concentración de Tioles totales (KW=9,70; P=0,01) y Tioles proteicos (KW=7,58; P=0,02); los valores más elevados, fueron observados en el grupo con obesidad. A pesar de que, no se encontraron diferencias estadísticamente, significativas para los Tioles solubles en ácido (KW=5,03; P=0,08), es importante resaltar, que el grupo de personas obesas mostró el valor promedio más elevado ($4,62 \pm 5,82 \mu\text{mol/l}$) respecto a los grupos normopeso ($1,41 \pm 0,42 \mu\text{mol/l}$) y sobrepeso ($2,61 \pm 1,65 \mu\text{mol/l}$).

Tabla 2. Valores promedios de los marcadores de estrés oxidativo en adultos clasificados de acuerdo al estado nutricional, según el índice de masa corporal (IMC), pertenecientes a la ciudad de Cumaná, estado Sucre.

MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO		Diagnóstico nutricional			P
		Normopeso	Sobrepeso	Obesidad	
		X±DE	X±DE	X±DE	
		(mín-máx) n=5	(mín-máx) n=15	(mín-máx) n=15	
Tioles	totales	$23,06 \pm 10,06$ (11,45-35,19)	$25,32 \pm 14,36$ (10,61-51,23)	$42,91 \pm 22,74$ (21,98-113,51)	0,01*
Tioles	proteicos	$21,65 \pm 10,15$ (9,56-34,19)	$22,71 \pm 15,31$ (6,02-50,47)	$38,29 \pm 23,51$ (14,52-110,48)	0,02*
Tioles	solubles en ácido ($\mu\text{mol/l}$)	$1,41 \pm 0,42$ (0,98-2,28)	$2,61 \pm 1,65$ (0,76-7,62)	$4,62 \pm 5,82$ (0,08-16,61)	0,08

* P<0,05 estadísticamente significativo; $\bar{X}$: media; DE: desviación estándar; min: valor mínimo; max: valor máximo; n: población.

Al comparar los parámetros estrés oxidativo entre los grupos sobrepeso y normopeso, no se encontraron diferencias, estadísticamente, significativas (tabla 3). Por el contrario, cuando se comparan los mismos parámetros entre el grupo obesidad y el de normopeso (tabla 4), se encuentra una diferencia, estadísticamente, significativa para las concentraciones de Tioles totales ($W=44,0$; $P=0,02$), siendo las personas obesas quienes mostraron los valores más elevados, mientras que, para el resto de los parámetros evaluados no se observaron diferencias significativas (figura 1).

Tabla 3. Valores promedios de los marcadores de estrés oxidativo en adultos con normopeso y sobrepeso, según el índice de masa corporal (IMC), pertenecientes a la ciudad de Cumaná, estado Sucre.

MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO		Diagnóstico nutricional		P
		Normopeso	Sobrepeso	
		X±DE	X±DE	
		(mín-máx) n=5	(mín-máx) n=10	
Tioles	totales	20,40±8,33	26,34±15,71	0,58
(μmol/l)		11,45-31,2	10,61-51,23	
Tioles	proteicos	19,02±8,04	23,67±16,89	0,95
(μmol/l)		(10,19-29,11)	(6,02-50,47)	
Tioles	solubles en	1,38±0,38	2,67±2,01	0,10
ácido (μmol/l)		(0,98-1,91)	(0,76-7,62)	
Porcentaje de tioles		92,62±2,51	84,02±16,86	0,50
proteicos		(88,99-95,35)	(44,16-98,53)	

* $P<0,05$ estadísticamente significativo; $\bar{X}$: media; DE: desviación estándar; min: valor mínimo; max: valor máximo; n: número de muestra.

Tabla 4. Valores promedios de los marcadores de estrés oxidativo en adultos con normopeso y obesidad, según el índice de masa corporal (IMC), pertenecientes a la ciudad de Cumaná, estado Sucre.

Diagnóstico nutricional			
MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO	Normopeso	Obesidad	P
	X±DE	X±DE	
	(mín-máx) n=5	(mín-máx) n=10	
Tioles totales (μmol/l)	20,40±8,33 (11,45-31,02)	45,04±27,33 (21,98-113,51)	0,02*
Tioles proteicos (μmol/l)	19,02±8,04 (10,19-29,11)	38,49±28,57 (14,52-110,48)	0,13
Tioles solubles en ácido (μmol/l)	1,38±0,38 (0,98-1,91)	6,55±6,34 (0,78-16,61)	0,06
Porcentaje de tioles proteicos	92,62±2,51 (88,99-95,35)	81,95±18,53 (50,91-98,10)	0,76

* P<0,05 estadísticamente significativo; $\bar{X}$: media; DE: desviación estándar; min: valor mínimo; max: valor máximo; n: número de muestra

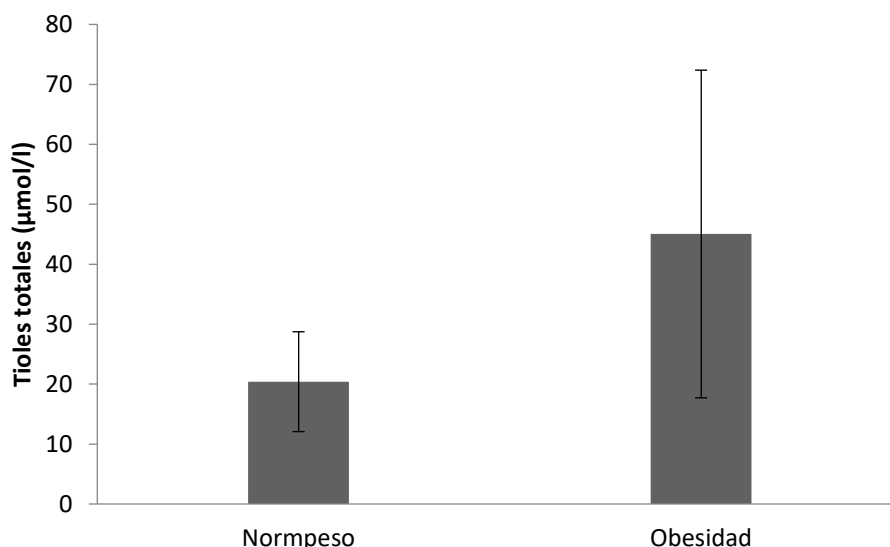


Figura 1. Concentración de Tioles totales en los grupos nutricionales normopeso y obesidad, pertenecientes a la ciudad de Cumaná, estado Sucre

En la figura 2, se presenta el perfil cromatográfico de la purificación parcial de la albúmina, donde se observan los valores de mayor absorbancia en los tubos 7, 8 y 9, disminuyendo en el tubo 10. El pico de mayor absorbancia se obtuvo en el tubo 8; así mismo, se muestra el perfil de grupos tioles, encontrándose similitudes en los picos de absorbancia obtenidos para la albúmina, donde, además, el pico de mayor absorbancia coincide en el eluato 8. La concentración correspondiente a las absorbancias de la albúmina y los tioles asociados a esta proteína, se presenta por separados, respectivamente, en las figuras 3 A y B, donde al igual que, en la figura 2, el mayor pico se observa en el eluato 8. Dicha coincidencia confirma que, los grupos tioles, determinados en cada eluato, corresponden con la albúmina purificada mediante cromatografía de afinidad iónica.

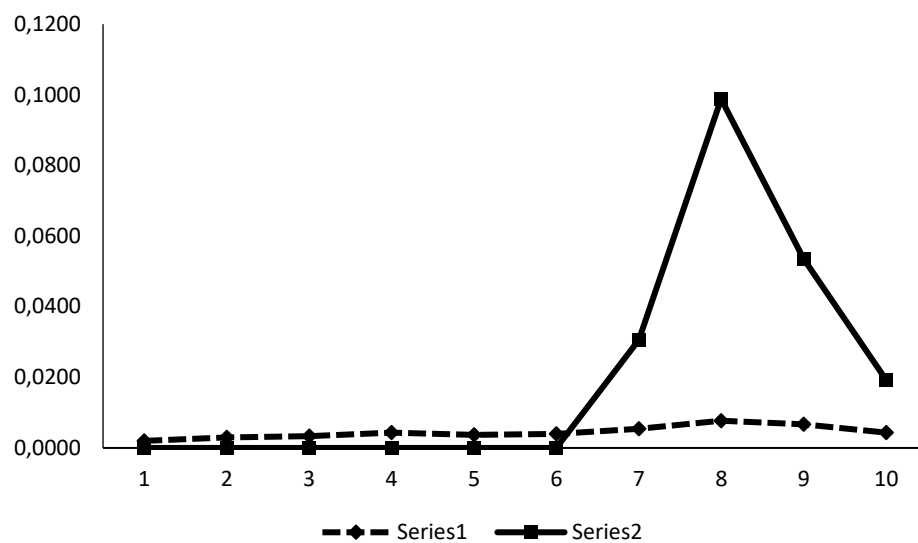
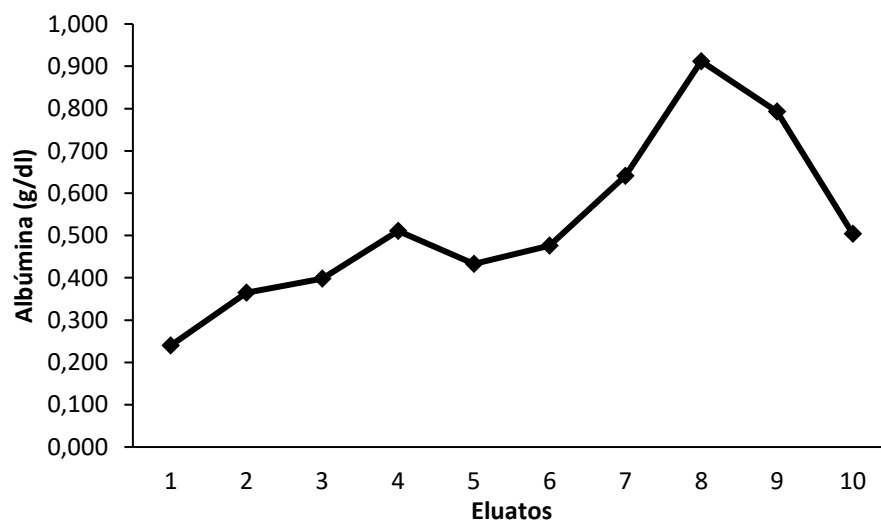


Figura 2. Absorbancias de la albúmina purificada por cromatografía de afinidad iónica y de los tioles ligados a la albúmina.

A.



B.

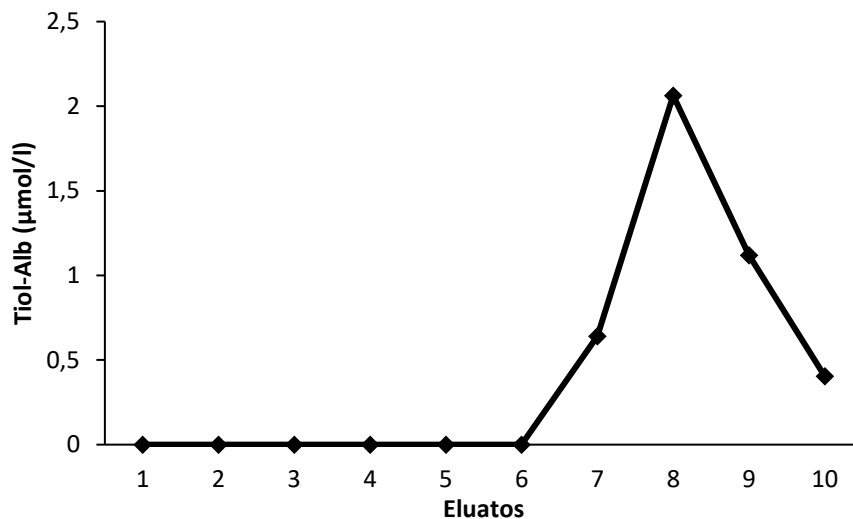


Figura 3. Concentración de la albúmina purificada, mediante cromatografía de afinidad iónica, para cada eluato obtenido (A). Concentración de grupos tioles asociados a la albúmina purificada en los eluatos (B).

En la tabla 5, se compara los tioles ligados a la albúmina, obtenidos en los grupos nutricionales sobrepeso y normopeso, a pesar de que, este parámetro se encuentra disminuido en el grupo sobrepeso, la diferencia no fue significativa, estadísticamente.

Por otro lado, al comparar este mismo parámetro entre los grupos con obesidad y normopeso, se observan diferencias, estadísticamente, significativas (tabla 6; $W=5,0$; $P=0,02$), observándose los valores más bajos en los obesos. El Porcentaje de tioles ligados a la albúmina está disminuido en más del 50% (figura 4 B).

Tabla 5. Valores promedios de los tioles ligados a la albúmina en adultos con normopeso y sobrepeso, según el índice de masa corporal (IMC), pertenecientes a la ciudad de Cumaná, estado Sucre.

MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO	Diagnóstico nutricional		P
	Normopeso X±DE (mín-máx) n=5	Sobrepeso X±DE (mín-máx) n=10	
Albúmina (g/dl)	4,10±0,32 (3,80-4,50)	4,17±0,40 (3,30-4,70)	0,85
Tioles ligados a la albúmina (μmol/l)	4,29±0,66 (3,74-5,41)	2,78±2,16 (0,06-5,56)	0,24
Porcentajes de tioles ligados a la albúmina	26,27±11,32 (12,84-39,36)	24,79±23,32 (0,30-68,07)	0,43

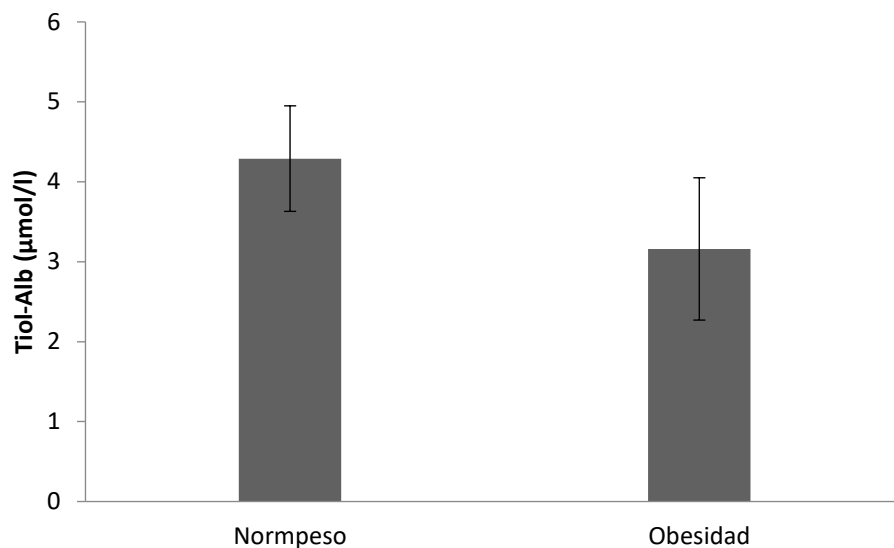
* P<0,05 estadísticamente significativo; $\bar{X}$: media; DE: desviación estándar; min: valor mínimo; max: valor máximo; n: número de muestra.

Tabla 6. Valores promedios de los tioles ligados a la albúmina en adultos con normopeso y obesidad, según el índice de masa corporal (IMC), pertenecientes a la ciudad de Cumaná, estado Sucre.

MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO	Diagnóstico nutricional		P
	Normopeso X±DE (mín-máx) n=5	Obesidad X±DE (mín-máx) n=10	
Albúmina (g/dl)	4,10±0,32 (3,80-4,50)	3,96±0,36 (3,20-4,50)	0,76
Tioles ligados a la albúmina (μmol/l)	4,29±0,66 (3,74-5,41)	3,16±0,89 (1,21-4,54)	0,02*
Porcentaje de tioles ligados a la albúmina	26,27±11,32 (12,84-39,36)	12,89±9,14 (1,09-31,25)	0,04*

* P<0,05 estadísticamente significativo; $\bar{X}$: media; DE: desviación estándar; min: valor mínimo; max: valor máximo; n: número de muestra.

A.



B.

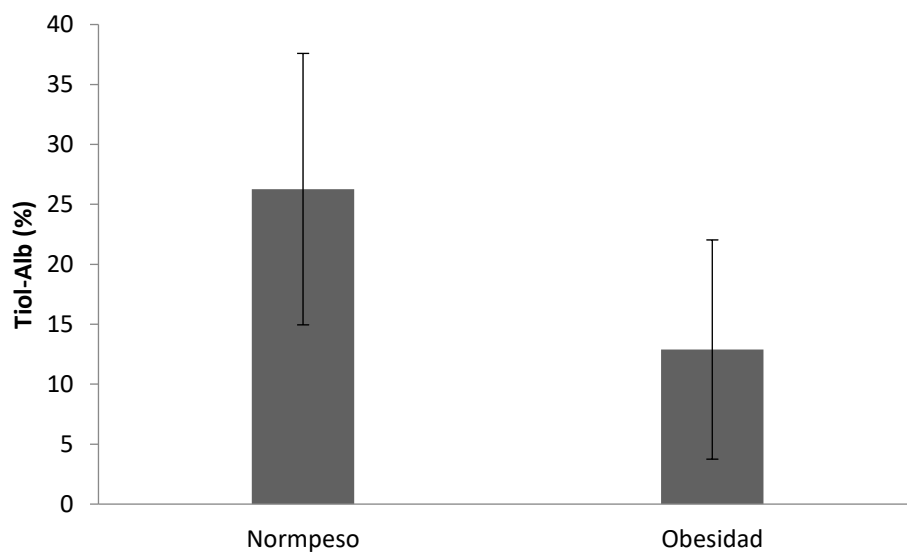


Figura 4. Concentración de tioles ligados a la albúmina purificada (A) y porcentaje de tioles ligados a la albúmina purificada (B) en adultos con normopeso y obesidad, según el índice de masa corporal (IMC), pertenecientes a la ciudad de Cumaná, estado Sucre.

Cuando se comparan los valores promedios de parámetros de estrés oxidativo en personas con sobrepeso respecto al grupo normopeso, empleando, además,

un grupo control positivo; no se encuentran diferencias, estadísticamente, significativas entre los grupos (tabla 7). A diferencia del grupo sobrepeso, los obesos (tabla 8), presentaron diferencias, estadísticamente, significativas para los Tioles totales ($KW=7,87$; $P=0,02$), observándose la mayor concentración para este parámetro en el grupo obesidad. Las personas obesas presentaron un incremento de Tioles totales por encima del 50%, respecto al grupo normopeso (tabla 8, figura 5); aunque no se encontraron diferencias significativas para la concentración de los tioles proteicos y tioles solubles en ácido para estos grupos (tabla 8), se observa, en las personas obesas, un marcado incremento de estos parámetros, respecto al grupo normopeso.

Tabla 7. Valores promedios de marcadores de estrés oxidativo en adultos con normopeso y sobrepeso, según el índice de masa corporal (IMC), y el control positivo, pertenecientes a la ciudad de Cumaná, estado Sucre.

MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO		Diagnóstico nutricional			P
		Normopeso X±DE (mín-máx) n=5	Sobrepeso X±DE (mín-máx) n=10	Control positivo X±DE (mín-máx) n=5	
Tioles	totales	20,40±8,33 (11,45-31,02)	26,34±15,71 (10,61-51,23)	39,70±4,65 (32,74-45,23)	0,08
(μmol/l)					
Tioles	proteicos	19,02±8,04 (10,19-29,11)	23,67±16,89 (6,02-50,47)	37,39±4,70 (30,83-41,04)	0,09
(μmol/l)					
Tioles	solubles en	1,38±0,38 (0,98-1,91)	2,67±2,01 (0,76-7,62)	2,31±2,12 (0,01-4,84)	0,32
ácido	(μmol/l)				
Porcentajes	de	92,62±2,51 (88,99-95,35)	84,02±16,86 (44,16-98,53)	94,21±5,02 (89,16-99,98)	0,36
tioles	proteicos				

* P<0,05 estadísticamente significativo; $\bar{X}$: media; DE: desviación estándar; min: valor mínimo; max: valor máximo; n: número de muestra.

Tabla 8. Valores promedios de marcadores de estrés oxidativo en adultos con normopeso y obesidad, según el índice de masa corporal (IMC), y control positivo, pertenecientes a la ciudad de Cumaná, estado Sucre.

MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO		Diagnóstico nutricional			P
		Normopeso X±DE (mín-máx) n=5	Obesidad X±DE (mín-máx) n=10	Control positivo X±DE (mín-máx) n=5	
Tioles	totales	20,40±8,33 (11,45-31,02)	45,04±27,33 (21,98-113,51)	39,70±4,65 (32,74-45,23)	0,02*
(μmol/l)					
Tioles	proteicos	19,02±8,04 (10,19-29,11)	38,49±28,57 (14,52-110,48)	37,39±4,70 (30,83-41,04)	0,05
(μmol/l)					
Tioles	solubles en	1,38±0,38 (0,98-1,91)	6,55±6,34 (0,78-16,61)	2,31±2,12 (0,01-4,84)	0,13
ácido	(μmol/l)				
Porcentajes	de	92,62±2,51 (88,99-95,35)	81,95±18,53 (50,91-98,1)	94,21±5,02 (89,16-99,98)	0,20
tioles proteicos					

* P<0,05 estadísticamente significativo; $\bar{X}$: media; DE: desviación estándar; min: valor mínimo; max: valor máximo; n: número de muestra.

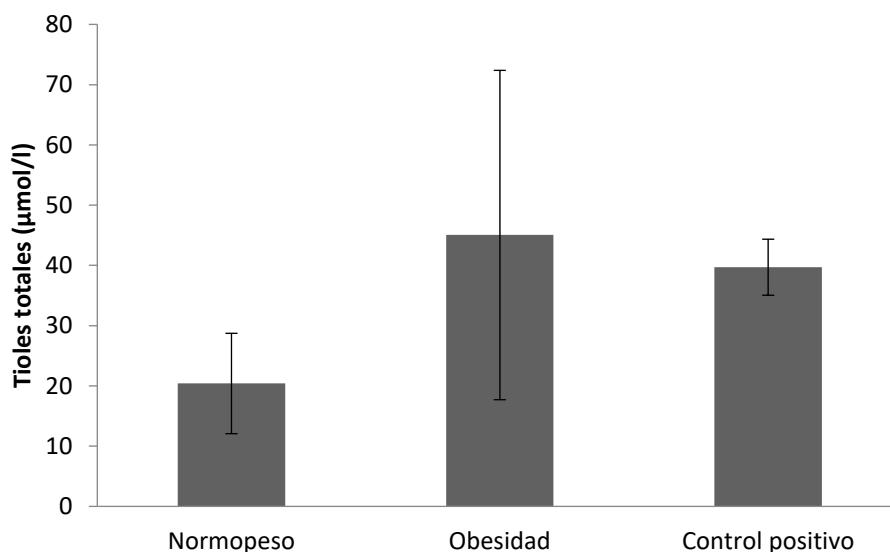


Figura 5. Concentración de tioles totales en adultos con normopeso, obesidad y control positivo, pertenecientes a la ciudad de Cumaná, estado Sucre.

En la tabla 9, se presenta la concentración y porcentaje de Tioles ligados a la albúmina en los grupos normopeso, sobrepeso y control positivo; no se encontraron diferencias, estadísticamente, significativas los grupos nutricionales evaluados; en cambio, el grupo obesidad (tabla 10), presentó diferencias, estadísticamente, para los Tioles ligados a la albúmina ($KW=8,60$; $P=0,01$) y el Porcentaje de tioles ligados a la albúmina ($KW=6,22$; $P=0,04$); el grupo obesidad muestra el valor promedio más bajo para estos parámetros, respecto al grupo normopeso (figuras 6 A y B).

Tabla 9. Valores promedios de albúmina, tioles ligados a la albúmina y porcentaje de a tioles ligados a la albúmina en adultos con normopeso y sobrepeso, según el índice de masa corporal (IMC), y control positivo, pertenecientes a la ciudad de Cumaná, estado Sucre.

MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO	Diagnóstico nutricional			P
	Normopeso X±DE (mín-máx) n=5	Sobrepeso X±DE (mín-máx) n=10	Control positivo X±DE (mín-máx) n=5	
Albúmina (g/dl)	4,10±0,32 (3,8-4,5)	4,17±0,40 (3,3-4,7)	4,06±0,48 (3,4-4,4)	0,87
Tioles ligados a la albúmina (μmol/l)	4,29±0,66 (3,74-5,41)	2,78±2,16 (0,06-5,56)	3,95±0,24 (3,59-4,22)	0,36
Porcentaje de tioles ligados a la albúmina	26,27±11,32 (12,84-39,36)	24,7912±23,32 (0,30-68,07)	10,72±1,71 (8,74-13,21)	0,31

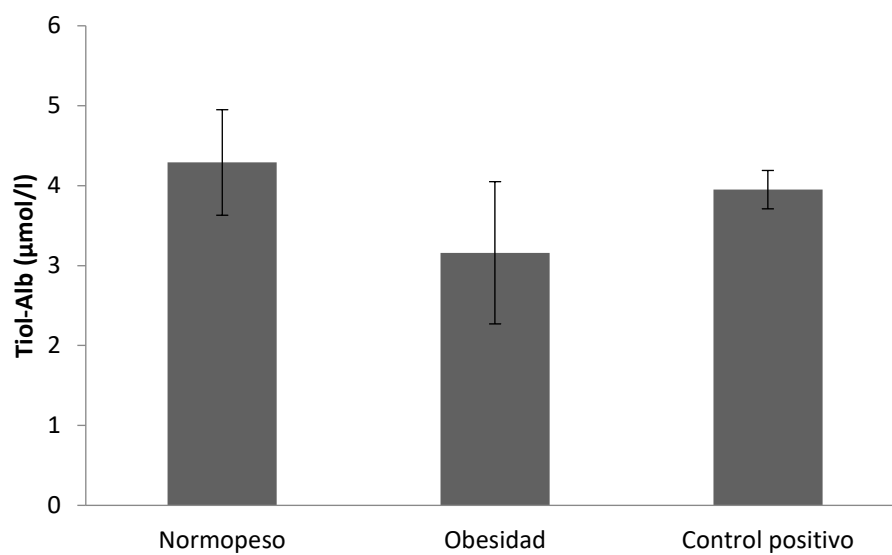
* P<0,05 estadísticamente significativo; $\bar{X}$: media; DE: desviación estándar; min: valor mínimo; max: valor máximo; n: número de muestra.

Tabla 10. Valores promedios de albúmina, tioles ligados a la albúmina y porcentaje de a tioles ligados a la albúmina en adultos con normopeso y obesidad, según el índice de masa corporal (IMC), y control positivo, pertenecientes a la ciudadde Cumaná, estado Sucre.

MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO	Diagnóstico nutricional			P
	Normopeso X±DE (mín-máx) n=5	Obesidad X±DE (mín-máx) n=10	Control positivo X±DE (mín-máx) n=5	
Albúmina (g/dl)	4,10±0,32 (3,80-4,50)	3,96±0,36 (3,20-4,50)	4,06±0,48 (3,40-4,40)	0,77
Tioles ligados a la albúmina (μmol/l)	4,29±0,66 (3,74-5,41)	3,16±0,89 (1,21-4,54)	3,95±0,24 (3,59-4,22)	0,01*
Porcentaje de tioles ligados a la albúmina	26,27±11,32 (12,84-39,36)	12,89±9,14 (1,09-31,25)	10,72±1,71 (8,74-13,21)	0,04*

* P<0,05 estadísticamente significativo; $\bar{X}$: media; DE: desviación estándar; min: valor mínimo; max: valor máximo; n: número de muestra.

A.



B.

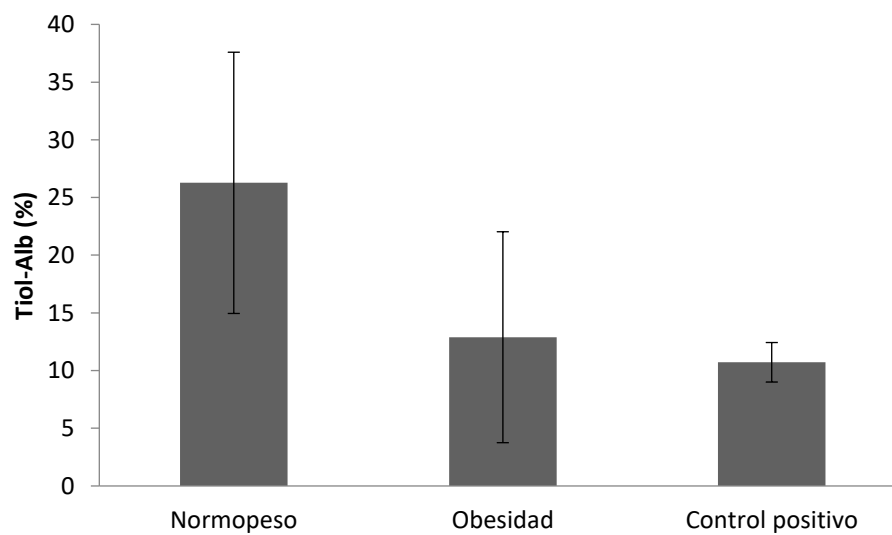


Figura 6. Concentración de tioles ligados a la albúmina purificada (A) y porcentaje de los tioles ligados a la albúmina (B) en adultos con normopeso, obesidad y control positivo, pertenecientes a la ciudad de Cumaná, estado Sucre.

DISCUSIÓN

En este trabajo se encontró una disminución significativa de los tioles ligados a la albúmina en el grupo de personas obesas, lo que indica que, en la condición de obesidad, sin comorbilidad asociada, se encuentra alterado el estado redox de la albúmina. La albúmina es una proteína plasmática que puede intercambiar, rápidamente, su estado redox dependiendo del ambiente sanguíneo; en condiciones normales gran parte de esta proteína se encuentra estado reducido (mercaptoalbúmina) abarcando, aproximadamente, el 75% de la albúmina total circulante, mientras que la fracción restante se encuentra circulando en estado oxidado (no mercaptoalbúmina) tanto en formas reversibles como irreversibles (Kawakami y cols., 2006; Steglich, 2015). Sin embargo, esta proporción de mecaptoalbúmina puede cambiar, ante la presencia de trastornos caracterizados por cursar con estrés oxidativo, que promueven la oxidación de la albúmina; algunas de las condiciones capaces de promover su oxidación son la diabetes mellitus, hemodiálisis y alteraciones renales y hepáticas (Quilan y cols., 2005; De Tursi y cols., 2013; Steglich, 2015).

La disminución de tioles asociados a la albúmina en el grupo obesos pareciera sugerir que dicha condición se encuentra promoviendo la oxidación de la albúmina; la albúmina proporciona más del 50% de la actividad antioxidante total del plasma, cuya actividad es atribuida a su abundancia y a la presencia de su grupo sulfidrilo reducido, sumado a esta actividad antioxidante *per se*, la albúmina también se une a otro potente antioxidante plasmático como lo es la bilirrubina (Levitt y Levitt, 2016). La obesidad es un estado patológico caracterizado por la presencia de un proceso inflamatorio crónico que por consiguiente perturba la homeostasis redox del organismo creando estrés oxidativo.

La albúmina posee un residuo de cisteína en la posición 34 de la cadena de aminoácidos el cual se denomina Cys34, este grupo en la albúmina constituye el 80% de grupos tioles en el plasma, siendo así la mayor fuente extracelular de tioles reactivos. De tal forma que la albúmina a través de su residuo Cys34 puede atrapar tanto especies reactivas de oxígeno como de nitrógeno. Bajo condiciones de estrés la albúmina expone su grupo tiol Cys34 y éste es oxidado resultando en la formación de ácido sulfénico; si las condiciones de estrés oxidativo se mantienen, el ácido sulfénico (HSA-SOH) puede ser oxidado a ácido sulfínico (HSA-SO₂H) o sulfónico (HSA-SO₃H) irreversiblemente, cambiando así la conformación de la albúmina y quizás desnaturalizándola (Taverna y cols., 2013) al ser la principal defensa plasmática contra estas especies, es posible, que las condiciones adversas, generadas por la obesidad estén dificultando su reducción y por ende el retorno de la no mercaptoalbúmina a su forma reducida, así como también estén promoviendo la oxidación del ácido sulfénico hacia formas redox irreversibles; esto podría explicar, el marcado descenso de la mercaptoalbúmina en las personas obesas (Turell y cols., 2009; Fernández y cols., 2011; De Tursi y cols., 2013).

Los tioles ligados a la albúmina, indican la cantidad de mercaptoalbúmina circulante en la sangre, así como también, refleja de forma indirecta y cualitativa, la proporción de no mercaptoalbúmina (Kawakami y cols., 2006). La cuantificación de los grupos sulfhidrilos se ha llevado a cabo, como método exploratorio del estrés oxidativo en diferentes poblaciones humanas, tales como niños autistas, individuos vegetarianos y fumadores crónicos, así como también en otros organismos, incluyendo del reino vegetal (Yépez, 2012; Salazar y cols., 2015; Tixicuro y Guerrón, 2016).

Los grupos sulfhidrilos son excelentes reductores y nucleófilos, cuyo mecanismo de acción antioxidante consiste en ceder uno o dos electrones, lo

que, a su vez, les permite neutralizar o eliminar especies reactivas (Turell y cols., 2017; Sanabria, 2018). Se sabe que, ante situaciones de estrés oxidativo, ocasionadas por especies reactivas derivadas del oxígeno y el nitrógeno como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), peroxinitrito ($ONOO^-$) y el ácido hipocloroso ($HOCl$), el grupo sulfhidrilo del residuo Cys34 de la albúmina cambia a una conformación expuesta y se auto-oxida con la finalidad de estabilizar la configuración electrónica de los radicales libres con los cuales interactúe (Taverna y cols., 2013). La oxidación de este grupo tiol conlleva a la formación de ácido sulfénico, un importante intermediario redox, que le permite a la albúmina retornar a su forma reducida con la restitución de su actividad antioxidante o en su defecto seguir oxidándose hasta formar compuestos, generalmente, irreversibles como el ácido sulfínico y sulfónico (Roche y cols., 2008; Turell y cols., 2013).

Teniendo en cuenta lo descrito anteriormente, es posible suponer que los daños oxidativos sobre la albúmina puedan acarrear modificaciones en su estructura con la eventual pérdida de su actividad biológica; dado al importante papel jugado por esta proteína en el mantenimiento del estado redox extracelular, su oxidación permanente afectará otras funciones que ella ejerce en la sangre como son las de transporte y reserva de sustancias endógenas y exógenas, la regulación de la presión coloidosmótica y el amortiguamiento de las variaciones ácido-base (Sitar y cols., 2013; Sancataldo y cols., 2014; Plantier y cols., 2016).

Igualmente, podría inducir la oxidación de otras moléculas que juegan funciones básicas en la sangre y en el mantenimiento de la salud (Quilan y cols., 2005). Aunque, Roche y cols. (2008), exponen que los daños sobre la capacidad antioxidante de esta proteína, desde el punto de vista biológico, son insignificantes dada su gran abundancia en la sangre; es bastante probable que una exposición crónica a daño oxidativo como en el caso de la obesidad puede sobrepasar la capacidad de recuperación de la molécula llevándola a daño

oxidativo permanente.

El incremento de tioles totales en los obesos con disminución de tioles ligados a la albúmina sugiere que otras proteínas plasmáticas o quizás pequeñas moléculas como cisteína u homocisteína están respondiendo al estado oxidativo generado por la obesidad y de una u otra manera compensando la disminución de la capacidad antioxidante de la albúmina.; de esta forma el organismo proporcionaría una mayor protección antioxidante a nivel sanguíneo contra los posibles agresores (González y cols., 2000; López y Suárez, 2010; Turell y cols., 2013).

Los resultados encontrados sugieren que la obesidad afecta la capacidad antioxidante de la albúmina, condición no observada en los individuos con sobrepeso. Turell y cols. (2013), evaluaron el estado redox de la albúmina, en diversas condiciones como diabetes mellitus, enfermedades hepáticas y disfunción renal, y encontraron que existen disminuciones de la mercaptoalbúmina, asociadas, además, con el incremento de las formas oxidadas. Estos valores coinciden con los reportados por Sitar y cols. (2013). Así mismo Barahona y cols. (2017), exponen que la obesidad es capaz de aumentar la cantidad tioles oxidables en el organismo.

Son varios los factores asociados a la obesidad que pueden estar creando un ambiente oxidativo, al punto de promover la disminución de la mercaptoalbúmina, algunos de ellos son el tejido adiposo, cuyos adipocitos y pre-adipocitos pueden estar secretando interleucinas pro-inflamatorias que estimulan a los macrófagos para formar especies reactivas derivadas del oxígeno; así mismo la ruptura de los adipocitos, ante el exceso de lípidos almacenados, puede promover la formación de estas sustancias. El tejido adiposo también secreta angiotensina II, que estimula la actividad de la enzima nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidasa, la cual constituye la principal ruta para formación de especies reactivas derivadas del oxígeno en

los adipocitos. Otros de los factores son las dietas con alto contenido de grasas y el incremento en el consumo de oxígeno; este último surge ante la gran carga mecánica que representa la obesidad para el cuerpo humano, lo cual conlleva al incremento de la respiración mitocondrial con la consecuente formación de superóxido, radical hidroxilo y peróxido de hidrógeno (Fernández y cols., 2011). A pesar de que los agentes oxidantes pueden reaccionar con las diferentes biomoléculas, las proteínas constituyen su principal blanco, especialmente, la albúmina, teniendo en cuenta su abundancia en el organismo, además de exhibir una mayor velocidad de reacción (Steglich, 2015).

Se ha sugerido que la unión de la albúmina a ácido grasos poliinsaturados y a esteroides puede contribuir con su capacidad antioxidante ya que podría prevenir la peroxidación de estos lípidos (Taverna y col., 2013). De tal forma que en individuos obesos con alteración en la capacidad antioxidante de la albúmina como se demuestra en este estudio, la posibilidad de oxidación de moléculas de naturaleza lipídica se incrementa, generándose así una espiral oxidativa.

Actualmente, se conoce la existencia de un estado de estrés oxidativo en patologías crónicas no transmisibles tales como la obesidad, la diabetes, los trastornos neurodegenerativos, y el cáncer (Guerra, 2001; Keaney y cols., 2003; Barbosa y cols., 2008). En tal sentido, es necesario contar con biomarcadores que permitan, con base a las alteraciones del equilibrio redox que puedan suceder en el organismo, el diagnóstico y pronóstico de estas patologías; los procesos oxidativos pueden ocasionar alteraciones en la estructura de las diferentes biomoléculas; la albúmina, específicamente, constituye el principal blanco de los radicales libres en el compartimiento intravascular (Steglich, 2015).

El presente estudio aporta datos iniciales para investigaciones de punta sobre la alteración redox de la albúmina, en este caso, la mercaptoalbúmina, como un

posible parámetro de laboratorio clínico, más que diagnóstico, sensible a los cambios iniciales que anteceden a determinadas patologías, con el propósito de prevenir su desarrollo. Así mismo, podría ser empleada para el monitoreo, una vez tomada las medidas preventivas que evitan el desarrollo de estas patologías.

CONCLUSIONES

Los valores séricos de los parámetros bioquímicos: proteínas totales, albúmina y globulinas estuvieron dentro del rango de referencia normal en los grupos nutricionales normopeso, sobrepeso y obesidad.

Los marcadores de estrés oxidativo tioles totales y tioles proteicos mostraron incrementos significativos en el grupo obesidad, indicando una mayor respuesta antioxidante en este grupo nutricional, tal respuesta sugiere un mayor grado de estrés oxidativo.

Mediante cromatografía de intercambio iónico se logró purificar parcialmente la albúmina sérica obteniéndose un pico de absorbancia que coincidió con el pico de grupos tioles, lo cual confirma que, los tioles evaluados en ese eluato corresponden a la albúmina aislada del suero de los pacientes correspondientes.

Los tioles ligados a la albúmina, a su vez, indicadores de cantidad de albúmina reducida o mercaptoalbúmina, mostraron disminuciones significativas en el grupo de personas obesas, sugiriendo que, en la obesidad se encuentra alterando el estado redox de la albumina.

El descenso de la mercaptoalbúmina observado en las personas obesas, sugiere el agotamiento de la respuesta antioxidante de esta proteína.

RECOMENDACIONES

A manera de ampliar el conocimiento, se ofrecen las siguientes recomendaciones:

Incrementar el número de muestras para verificar si las tendencias observadas en cuanto a los valores obtenidos se mantienen, sobre todo en el caso de tioles solubles en ácido.

Hacer este estudio en grupo de obesos con diferentes tipos de obesidad, así como en diabéticos para evaluar el grado de oxidación de la albúmina.

Estandarizar la metodología de extracción de la albúmina, probando otras resinas y otros tipos de cromatografía para establecer la más adecuada para su purificación y estudios de sus grupos tioles.

Combinar la determinación de albúmina oxidada con otros biomarcadores como los de peroxidación lipídica.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre, P.; Orallo, M.; Pereira, D. y Prieto, P. 2014. Current role of albumin in critical care. Revista Española de Anestesiología y Reanimación, 61: 497-504.
- Aschener, P.; Buendía, R.; Brajkovich, I.; González, A.; Figueredo, R.; Juárez, X.; Uriza, F.; Gomez, A. y Ponte, C. 2011. Determination of the cutoff point for waist circumference that establishes the presence of abdominal obesity in Latin American men and women. Elsevier, 93: 243-247.
- Balcells, A. 1997. La Clínica y el Laboratorio. Décimo séptima edición. Editorial Masson, S.A. Barcelona, España.
- Barahona, A.; Guerron, A.; Tixicuro, E. y Salazar, R. 2017. Ácido úrico, bilirrubina y tioles como indicadores del estado oxidativo en adultos evaluados nutricionalmente. Saber, (29): 367-373.
- Basain, J.; Valdés M.; Miyar, E.; Pérez, M.; Álvarez, D. y Romero, M. 2017. Factor inducible por hipoxia como mecanismo molecular regulador de la homeostasis del oxígeno y su respuesta ante la hipoxia a nivel celular en la obesidad. Panorama Cuba y Salud, 12(3): 66-73
- Barbosa, K.; Bressan, J.; Zulet, M. y Martínez, J. 2008. Influencia de la dieta sobre marcadores plasmáticos de estrés oxidativo en humanos. Anales Del Sistema Sanitario De Navarra, 31(3): 259-258.
- Benítez, D. 2006. Vitaminas y oxidoreductasas antioxidantes: defensa ante el estrés oxidativo. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas, 25(2): 8-16.
- Bernard, J. 1994. Diagnóstico y Tratamiento Clínico por el Laboratorio. Novena edición. Editorial Masson, S.A Barcelona.
- Blancas, G.; Almanza, J.; López, R.; Alarcón, F.; García, R. y Cruz, M. 2009. La obesidad como proceso inflamatorio. Boletín Médico del Hospital Infantil de México, 67: 88-97.
- Braguinsky, J. 2002. Prevalencia de obesidad en América Latina. Anales del Sistema Sanitario de Navarra, 25: 109-115.
- Cartín, M. 2014. Declaración de Helsinki de la asociación médica mundial: principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. Revisando su última versión. International journal of medical and surgical

- sciences, 1: 339-346.
- Céspedes, T. y Sánchez, D. 2000. Algunos aspectos sobre el estrés oxidativo, el estado antioxidante y la terapia de suplementación. Revista Cubana Cardiológica, 14(1): 55-60.
- Chaves, L. y Salazar, L. 2001. Homocisteína y Enfermedad Coronaria. Revista Costarricense de Cardiología, 3(3): 1-6.
- Chihuailaf, R.; Contreras, P. y Wittwer, F. 2002. Patogénesis del estrés oxidativo: consecuencias y evaluación en salud animal. Veterinaria México, 33(3): 266-281.
- Corrales, L. y Muñoz, A. 2012. Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. Nova, 10(18): 135-250.
- De Tursi, L.; Vázquez, A.; Vázquez, A.; Sáez, G.; Mahmoud, A. y Gumbau, V. 2013. Estrés oxidativo; estudio comparativo entre un grupo de población normal y un grupo de población obesa mórbida. Revista Nutrición Hospitalaria, 28(3): 671-675.
- Dorado, C.; Rugerio, C. y Rivas, S. 2003. Estrés oxidativo y neurodegeneración. Revista de la Facultad de Medicina, 46(6): 229-235.
- Doumas, B.; Bayse, D. y Carter, R. 1981. A candidate reference method for determination of total protein serum. Clinical Chemistry, 27: 164.
- Ellman, G. 1959. Tissue sulfhydryl groups. Archives of Biochemistry and Biophysics, 82: 70-77.
- Fernández, A.; Madrigal, E.; Bautista, M.; Esquivel, J.; Morales, A.; Esquivel, C.; Durante, I.; Sánchez, G.; Valadez, C. y Morales, J. 2011. International Journal of Molecular Sciences, 12: 3117-3132.
- Fernández, J.; Tornero, I.; Sierra, A.; Sáez, J. 2018 Revisión sistemática sobre los estudios de intervención de actividad física para el tratamiento de la obesidad. Retos, 33: 261-266.
- González, M.; Betancourt, M. y Ortiz, R. 2000. Daño oxidativo y antioxidantes. Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal, 25(1): 3-9.
- Guerra, E. 2001. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. Anales de Medicina Interna, 18(6): 326-335.
- Gutiérrez, J. 2002. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Revista

Cubana Médico Militar, 31(2): 126-133.

Iwao, Y.; Ishima, Y.; Yamada, J.; Noguchi, T.; Kragh, U.; Mera, K.; Honda, D.; Suenaga, A.; Maruyama, T. y Otagiri, M. 2012. Quantitative evaluation of the role of cysteine and methionine residues in the antioxidant activity of human serum albumin using recombinant mutants. Biochemistry and Molecular Biology, International Union, 64(5): 450-454.

Kaplan, L. y Pesce, A. 1991. Química Clínica. Técnicas de Laboratorio Fisiopatología, Métodos de Análisis. Editorial Médica Panamericana, S.A. México D.F.

Kawakami, A.; Kubota, K.; Yamada, N.; Tagami, U.; Takehana, K.; Sonaka, I.; Suzuki, E. y Hirayama, K. 2006. Identification and characterization of oxidized human serum albumin. Federation of European Biochemical Societies Journal, 273(14): 3346-3357.

Keaney, J.; Larson, M.; Vasan, M.; Wilson, P.; Lipinska, I.; Corey, D.; Massaro, J.; Sutherland, P.; Vita, J. y Benjamin, E. 2003. Obesity and Systemic Oxidative Stress Clinical Correlates of Oxidative Stress in The Framingham Study. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, 23: 434-439.

Levitt, D. y Levitt, M. 2016. Human serum albumin homeostasis: a new look at the roles of synthesis, catabolism, renal and gastrointestinal excretion, and the clinical value of serum albumin measurements. International Journal of General Medicine, 9: 229–255.

López, G. y Suárez, T. 2010. Albumin and transferrin are antioxidants that prevent. Revista Latinoamericana de Química, 38(3): 159-167.

Mayor, R. 2011. Estrés Oxidativo y Sistema de Defensa Antioxidante. Instituto de Medicina Tropical, 5(2):23-29.

Menéndez, A. y Fernández, J. 1999. Metabolismo de la Homocisteína y su Relación con la Aterosclerosis. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas, 18(3):155-68.

Núñez, A. 2011. Terapia antioxidante, estrés oxidativo y productos antioxidantes: retos y oportunidades. Revista Cubana de Salud Pública, 37: 644-660.

Organización Mundial de la Salud (OMS). 1995. El estado físico: uso e interpretación de la antropometría. Ginebra: OMS.

Plantier, J.; Duretz, V.; Devos V.; Urbain, R. y Jorieux, S. 2016. Comparison of

- antioxidant properties of different therapeutic albumin preparations. Elsevier, 44(4): 226-23.
- Quinlan, G.; Martin, G. y Evans, T. 2005. Concise Review in Mechanisms of Disease, 41(6): 1211-1219.
- Ramos, M.; Batista, C.; Gómez, B. y Zamora, A. 2006. Diabetes, estrés oxidativo y antioxidantes. Artemisa en línea, 8: 7-15.
- Raoufinia, R.; Mota, A.; Keyhanvar¹, N.; Safari¹, F.; Shamekhi¹, S. y Abdolalizadeh, J. 2016. Overview of Albumin and Its Purification Methods. Advanced Pharmaceutical Bulletin, 6(4): 495-507.
- Roche, M.; Rondeau, P.; Ranjan, N.; Tarnus, E. y Bourdon, E. 2008. The antioxidant properties of serum albumin. Federation of European Biochemical Societies Letters, 582(13): 1783-1787.
- Rodríguez, T.; Peña, M.; Gómez, N.; Santisteban, Y. y Hernández, M. 2015. Estrés oxidativo: genética, dieta y desarrollo de enfermedades. Correo Científico Médico, 19(4): 690-705.
- Salazar, R.; Lozada, U.; Rosales, M.; Astudillo, H.; Prin, J.; De Astudillo, L.; Tróccoli, L. y Lemus, M. 2015. Metales pesados y su relación con marcadores de estrés oxidativo en fumadores crónicos. Salud ambiental, 15(2): 88-95.
- Sanabria, Y. 2018. Evaluación de parámetros hematológicos y biomarcadores de estrés oxidativo en escolares con diagnóstico de bajo peso, municipio sucre, estado sucre. Trabajo de grado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná. Venezuela.
- Sancataldo, G.; Vetri, V.; Foderà, V.; Di Cara, G.; Militello, V. y Leone, M. 2014. Oxidation Enhances Human Serum Albumin Thermal Stability and Changes the Routes of Amyloid Fibril Formation. Public Library of Science, 9: 1-11.
- Sánchez, A. 2015. Albúmina modificada por la isquemia como un biomarcador de estrés oxidativo en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. Trabajo final de maestría. Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. Colombia.
- Sánchez, V. y Méndez, N. 2013. Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. Revista de Investigación Médica Sur, 20(3): 161-168.
- Sedlak, J. y Lindsay, R. 1968. Estimation of Total Protein-Bound and Nonprotein Sulfhydryl Groups in Tissue with Ellman's Reagent. Analytical

Biochemistry, 25: 192-205.

Sitar, M.; Aydin, S. y Cakatay, U. 2013. Human Serum Albumin and Its Relation with Oxidative Stress. Clinical laboratory, 59(9-10): 945-52.

Soca, P. y Peña, A. 2009. Consecuencias de la obesidad. Actividad Científica Informativa en Medicina, 20(4): 84-92.

Steglich, M. 2015. Puesta a punto de técnicas para la detección de ácido sulfénico en albúmina de plasma. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo. Uruguay.

Taverna, M.; Marie, A.; Mira, J. y Guidet, B. 2013. Specific antioxidant properties of human serum albumin. Anal. of Intensive Care, 3(4): 1-7.

Tixicuro, E. y Guerrón, A. 2016. Concentración de tioles totales y tioles solubles en acido como indicadores del estado oxidativo en el personal administrativo de la UTN, Ibarra 2014-2015. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Técnica del Norte, Ibarra. Ecuador.

Tovoli, A.; Zaccherini, G.; Napoli, L.; Serena, C.; Tufoni, M. y Caraceni, P. 2013. Utilizzo dell'albumina nelle complicanze della cirrosi: evidenze e nuove prospettive. Reviews in Health Care, 4(3): 159-173.

Turell, L.; Carballal, S.; Botti, H.; Radi, R. y Alvarez, B. 2009. Oxidation of the albumin thiol to sulfenic acid and its implications in the intravascular compartment. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 42(4): 305-311.

Turell, L.; Radi, L. y Alvarez, B. 2013. The thiol pool in human plasma: The central contribution of albumin to redox processes. Elsevier, 65: 244-253.

Velásquez, P. 2014. Efecto del cadmio en la oligoproteína - p y ensayo de toxicidad mitocondrial en los tejidos de *Colosoma macropomirri* (Cuvier, 1818) y *Ancistrus beuifilis* (Eigenmann, 1920). Trabajo de grado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná. Venezuela.

Yépez, Z. 2012. Estatus de las concentraciones de cadmio, hierro, ferritina, creatinina y tioles totales en vegetarianos, consumidores habituales de productos del mar y un grupo control. Trabajo de grado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná. Venezuela.

Zamora, J. 2007. Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. Revista chilena de nutrición, 34: 1-12.

HOJAS DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

Título	Respuesta antioxidante de la albúmina en individuos con sobrepeso y obesidad
---------------	--

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Durán R Eleanny Del C.	CVLAC	19581181
	e-mail	Ele.duran91@gmail.com
	e-mail	
Veliz A Daniel E	CVLAC	20347510
	e-mail	Veliz.a.daniel@hotmail.com
	e-mail	

Palabras o frases claves:

Antioxidante
Albúmina

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

Resumen (abstract):

En el presente estudio evaluó la respuesta antioxidante de la albúmina, en individuos con sobrepeso y obesidad pertenecientes a la ciudad de Cumaná, estado Sucre, se estudiaron 40 individuos clasificados según el índice de masa corporal (IMC) con edades comprendidas entre 21 y 60 años, de sexo femenino y masculino, para valorar el estado nutricional, las personas fueron medidas y pesadas, además se les tomó medida de la circunferencia de cintura (CC). Se determinó los niveles de proteínas totales (PT) y albúmina (ALB) en suero como marcadores de estrés oxidativo, posteriormente se determinó las concentraciones de grupos tioles totales (TT), tioles proteicos (TP) y tioles solubles en ácido (TSA) y se realizó la purificación y cuantificación de la albúmina y de los tioles unida a ella, así como las relaciones entre los tioles y albúmina purificada. Se encontró una disminución significativa de los tioles ligados a la albúmina en el grupo de personas obesas en más del 50%, así mismo se hallaron valores elevados de tioles totales y tioles proteicos en el grupo obesidad. Lo que sugiere que el organismo parece estar respondiendo a esta oxidación de la albúmina incrementando los tioles totales, probablemente a expensa de otras proteínas plasmáticas y de pequeñas moléculas ricas en grupos tioles. Los resultados indican que la exposición crónica a daño oxidativo como es el caso de la obesidad, es capaz de disminuir la cantidad de tioles oxidables en la albúmina y es bastante probable que esta condición pueda sobrepasar la capacidad de recuperación de la molécula llevándola a daño oxidativo permanente.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Salazar, Raquel	ROL	CA ☐ AS ☒ TU ☐ JU ☐
	CVLAC	
	e-mail	Rsalazarlugo50@gmail.com
	e-mail	
Antón Marín, Yanet	ROL	CA ☐ AS ☐ TU ☐ JU ☒
	CVLAC	8439227
	e-mail	Yanton@udo.edu.ve
	e-mail	
Yegres, Sorana	ROL	CA ☐ AS ☐ TU ☐ JU ☒
	CVLAC	
	e-mail	soryeg@gmail.com
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año Mes Día

2018	10	09
------	----	----

Lenguaje: **SPA** _____

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis-DuranyVeliz.doc	Aplication/Word.doc

Alcance:

Espacial: _____ (Opcional)

Temporal: _____ (Opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo: Licenciado en Bioanálisis _____

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciatura _____

Área de Estudio: Bioanálisis _____

Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado: Universidad de Oriente _____

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CUN°0975

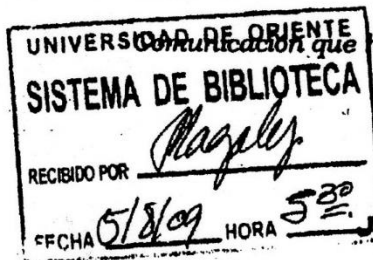
Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.



Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

JUAN A. BOLANOS CUAPELO
Secretario

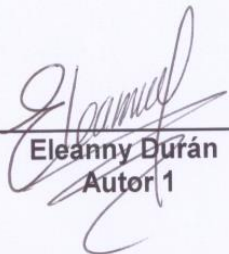


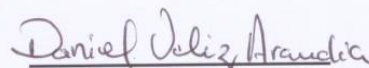
C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

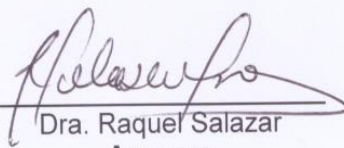
JABC/YGC/manuja

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso- 6/6

Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009) : “los Trabajos de Grado son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y sólo podrán ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Consejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Consejo Universitario para su autorización”.


Eleanny Durán
Autor 1


Daniel Veliz
Autor 2


Dra. Raquel Salazar
Asesora