

Marcadores de estrés oxidativo en adultos con sobrepeso y obesidad, Venezuela

Raquel Salazar-Lugo

Laboratorio de Proteínas e Inmunotoxicidad
Universidad de Oriente
raquelsalazarlugo@gmail.com
Venezuela

Patricia Velásquez

Laboratorio de Proteínas e Inmunotoxicidad
Universidad de Oriente
Venezuela

Annie Segura

Departamento de Bioanálisis
Universidad de Oriente
Venezuela

Daniella Vilachá

Laboratorio de Proteínas e Inmunotoxicidad,
Universidad de Oriente
Venezuela

Yanet Antón

Laboratorio de Proteínas e Inmunotoxicidad
Universidad de Oriente
Venezuela

Fecha de recepción: 21 - 03 -2019 Fecha de aceptación: 08- 04- 2019

Resumen

Indicadores bioquímicos del estado oxidativo podrían contribuir en la evaluación del riesgo de padecer enfermedades relacionadas con el desbalance oxidativo. En este trabajo se evaluaron marcadores de estrés oxidativo en adultos con sobrepeso y obesidad. A 74 hombres y mujeres, con edades entre 18-50 años, se les realizó una evaluación nutricional a través del índice de masa corporal (IMC) y la circunferencia de cintura (CC); se determinó el conteo de leucocito (CL), glucosa (GLU), colesterol total (CT), lipoproteínas de

alta densidad (HDL), baja densidad (LDL), y muy baja densidad (VLDL), triglicéridos (TG) y ácido úrico (AU), bilirrubina total (BT), directa (BD) e indirecta (BI), albúmina y grupos tioles como marcadores de estrés oxidativo. El 20,27% presentó obesidad grado I (OB) y 39,18% sobrepeso (SP) según IMC. El 49,59% de los individuos presentaron obesidad abdominal (OA). Los parámetros bioquímicos y marcadores de estrés oxidativo, estuvieron dentro de los rangos de referencia. Las personas con SP y OB mostraron los valores más altos de GLU, COL, VLDL, TG y de AU y BD e igualmente las personas

con OA mostraron los valores estadísticamente más altos de COL, VLDL, TG, AU, BD y CL. Una correlación positiva fue encontrada entre el AU y la CC; entre el CL y la CC y entre el CL y la concentración de AU. Se demuestra que en personas obesas, con perfil lipídico y glicemia en los rangos de referencia, el AU y la BD pueden considerarse como las principales moléculas en la línea de defensa antioxidante.

Palabras clave: Obesidad; tioles; estrés oxidativo; ácido úrico; bilirrubina

Markers of oxidative stress in adults with overweight and obesity, Venezuela

Abstract

Biochemical indicators of the oxidative state could contribute in the evaluation of the risk of diseases related to oxidative imbalance. In this work, biomarkers of oxidative stress in overweight and obese adults were evaluated. 74 men and women, aged between 18-50 years, were evaluated through body mass index (BMI) and waist circumference (WC); We determined the count of leukocyte (CL), glucose (GLU), total cholesterol (TC), high density lipoprotein (HDL), low density (LDL), and

very low density (VLDL), triglycerides (TG) and uric acid (UA), total bilirubin (TB), direct (DB) and indirect (IB), albumin and thiol groups as markers of oxidative stress. 20.27% presented obesity grade I (OB) and 39.18% overweight (OW) according to BMI. 49.59% of the individuals presented visceral obesity (OA). The biochemical parameters and markers of oxidative stress were within the reference ranges. People with OW and OB showed the highest values of GLU, COL, VLDL, TG and AU and DB and equally people with VO showed the statistically highest va-

lues of COL, VLDL, TG, AU, BD and CL. A positive correlation was found between the UA and the WC; between CL and WC and between CL and UA concentration. It is demonstrated that in obese people, with lipid profile and glycemia in the reference ranges, the UA and DB can be considered as the main molecules in the line of antioxidant defense.

Key words: Obesity; thiols; oxidative stress; uric acid; bilirubin

Introducción

Las conductas alimentarias están relacionadas con el estado oxidativo, un ejemplo de ello es que el consumo de alimentos con un alto índice glucémico se asocia con niveles elevados de la oxidación de lípidos de membrana (Yazıcıy Sezer, 2017; de Mello *et al.*, 2018). Así mismo, el estado nutricional del individuo, impacta negativamente sobre la capacidad antioxidante cuando los indicadores nutricionales se encuentran por encima de los valores normales (Hermana *et al.*, 2011). El sistema de defensa antioxidante del organismo es de naturaleza enzimática y no enzimática. En relación al primero, está formado por complejos enzimáticos que, a través de diferentes reacciones, transforman las especies reactivas más dañinas en formas menos perjudiciales. Como sustancias antioxidantes no enzimáticas se consideran dos grandes grupos: el primero son las sustancias endógenas, dentro de estas, el glutatión reducido (GSH), el ácido úrico, la bilirrubina y la albúmina; y el segundo, son las sustancias exógenas como las vitaminas C, E y A, minerales con capacidad antioxidante (selenio, zinc, cobre y manganeso) y el ácido lipoico (Kurutas, 2016).

El sobrepeso y la obesidad se consideran una epidemia mundial y Venezuela no escapa a la misma, siendo factores predisponentes al padecimiento de diferentes condiciones patológicas, como la diabetes mellitus, hipercolesterolemia, hipertensión arterial y algunos tipos de cáncer (Engin, 2017). Todos estos procesos están relacionados con inflamación crónica y por consiguiente, con cambios en el estado oxidativo de

la célula. (Niemann *et al.*, 2017). Para el año 2013, en Venezuela, el porcentaje de malnutrición por exceso era del 54,95%, del cual el 29,52% corresponde al sobrepeso, y 25,43% a la obesidad, con base en mediciones del IMC en una muestra representativa de sujetos entre 1 y 40 años de todo el territorio nacional. En el estado Sucre, este porcentaje de malnutrición por exceso fue de 59,03%, con un 36,34% de sobrepeso y 22,69% de obesidad, lo que la convierte en una de las regiones del país donde se presenta con mayor frecuencia este tipo de malnutrición (INN, 2013).

La obesidad se acompaña frecuentemente de un cierto grado de inflamación, que se denomina inflamación crónica de bajo grado o para inflamación; la cual lleva a la activación del sistema inmune (Hotamisligil, 2006). Paciente con enfermedades crónicas (diabetes, hipertensión arterial, obesidad), muestran elevados los biomarcadores de EO tales como el ácido úrico y la bilirrubina (Salazar-Lugo *et al.*, 2014). Estos antecedentes conducen a considerar que la medición de parámetros indicadores del estado oxidativo podría contribuir en la evaluación del perfil de riesgo de los individuos a padecer las enfermedades relacionadas con el desbalance entre oxidantes y antioxidantes y así esclarecer los efectos causados por el desequilibrio pro-oxidativo a causa del sobrepeso y la obesidad; es así que esta investigación tuvo como objetivo evaluar algunos parámetros bioquímicos reconocidos actualmente como marcadores de estrés oxidativo en adultos con sobrepeso y obesidad.

Materiales y Métodos

Muestra poblacional

El grupo de estudio incluyó 74 individuos, con edades comprendidas entre 18 y 50 años, de sexo femenino y masculino (49 mujeres 66,21% y 25 hombres 33,78%), pertenecientes al personal administrativo, obrero, docente y estudiantil de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Venezuela.

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 en la declaración del Helsinki, y las normas del código de ética para la vida de la República Bolivariana de Venezuela (MPPCTI, 2011; WHO, 2013).

Además, se aplicó una encuesta para la recolección de información socio-demográfica (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.

Criterios de exclusión

Fueron excluidos de este estudio todas aquellas personas diagnosticadas como enfermos cardiovasculares o cualquier otra enfermedad, embarazadas y aquellas personas que estén recibiendo alguna medicación incluyendo anticonceptivos.

Determinación de las medidas antropométricas

Para diferenciar los grupos de acuerdo al grado o no de obesidad, los individuos fueron evaluados antropométricamente y clasificados de acuerdo al índice de masa corporal (IMC) y a la circunferencia de cintura (CC), siguiendo los criterios de la OMS (1995) para la clasificación por IMC y del Consenso Latinoamericano de la Asociación Latinoamericana de Diabetes (Rosas et al., 2010) para la clasificación por CC.

Para la valoración del estado nutricional, los sujetos en estudio fueron pesados en una balanza electrónica (CLEVER, modelo EF962. ISO 9001:2008 CERTIFIED BY SGS) y medidos con un tallímetro de cinta (de 0 a 200 cm y precisión de 1 mm). Estos datos fueron usados para calcular el Índice de Masa Corporal (IMC), mediante la siguiente fórmula: $IMC = \text{Peso (Kg)} / \text{talla (m)}^2$. Se consideraron los siguientes puntos de corte de acuerdo a los criterios de la OMS (1995): Desnutrición (D): $< 18,5$ kg/m²; Normal (NP): $18,5 - 24,99$ kg/m²; Sobrepeso (SP): $25,0 - 29,99$ kg/m²; Obesidad (OB): > 30 kg/m²; Obesidad I: $30 - 34,9$ kg/m²; Obesidad II: $35 - 39,9$ kg/m²; Obesidad III: ≥ 40 .

Para la circunferencia de cintura se utilizaron los puntos de corte para: Varones > 94 cm; Hembras > 88 cm (Rosas et al., 2010).

Obtención de muestras sanguíneas

Una vez que las personas fueron evaluadas antropométricamente se pro-

cedió 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, se tomaron 5 ml de sangre con jeringa estéril descartable los cuales fueron transferidos a un tubo de ensayo seco y estéril, una vez formado el coágulo; la muestra se centrifugó por 10 minutos a 3 000 rpm en una centrífuga marca Dynac, Clay Adams Brand modelo 420101 para la obtención del suero sanguíneo en el cual se realizaron las determinaciones de los parámetros bioquímicos colesterol, VLDL, LDL, HDL; glicemia, albúmina, proteínas totales, ácido úrico, bilirrubina total, directa e indirecta y de tioles solubles en ácido (TSA) y tioles totales (TT).

La determinación de los parámetros bioquímicos (colesterol, VLDL, LDL, HDL; glicemia, albumina, proteínas totales, ácido úrico, bilirrubina total, directa e indirecta) se realizó empleando el equipo analizador automatizado del modelo Express Plus 550, de la casa comercial Bayer con previa calibración y control del equipo utilizando reactivos de la misma casa comercial.

Tioles solubles en ácido (TSA)

La determinación de grupos TSA se realizó a partir del protocolo de Sedlak (1968), Esta técnica se fundamenta en que los grupos tioles libres (-SH) presentes en muestras proteicas pueden ser separados de las proteínas; Para determinar tioles solubles se procedió a realizar una dilución 1/50 de suero en Tris HCl-EDTA, (HCl 30mM; EDTA 3mM, pH 8,20). Para precipitar las proteínas

se le agregaron 50 mg de ácido sulfosalicílico a 250 μ l del suero, se mantuvo a -4°C por 15 minutos, luego fue centrifugado a 7000 rpm por 10 minutos. Se tomaron 200 μ l del sobrenadante y se le agregó 800 μ l de Tris HCl (1mM), pH de 8,20 y 80 μ l de DTNB (29,7 mg de DTNB en 25 ml de metanol puro), esta mezcla se midió espectrofotométricamente a 412 nm en un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 25/35/45 UV/Vis.

La concentración sérica de los TSA se calculó mediante de una curva de calibración preparada con una solución patrón de cisteína hidroclore 100 μ mol/l. El análisis de cada muestra de realizó por duplicado y los resultados fueron expresados en μ mol/l.

Tioles totales (TT)

Para la determinación sérica de grupos TT, se realizó una dilución 1/10 de suero en una solución amortiguadora de Tris HCl- EDTA, (30mM Tris y 3 mM EDTA, H de 8,20; (Ellman, 1959) a esta mezcla se le agregaron 770 μ l de metanol y 48 μ l de DTNB (29,7 mg de DTNB en 25 ml de metanol), se dejó reposar por 5 minutos a temperatura ambiente., se centrifugó a 3000 rpm durante 5 minutos. El sobrenadante se leyó espectrofotométricamente, a una absorbancia a 412 nm. La concentración sérica de los TT se calculó mediante una curva de calibración preparada con cisteína hidroclore 100 μ mol/l. El análisis de cada muestra de realizó por duplicado y los resultados fueron expresados en μ mol/l de SH.

Análisis estadístico

A fin comparar las variables estudiadas en los grupos establecidos según el criterio de CC (control y con obesidad) se realizó un análisis de test Student (ts) al 95% de confiabilidad. En caso de no cumplirse los supuestos, se aplicaron los métodos no paramétricos de Mann Whitney y Kruskal Wallis con el propósito de asumir, bajo hipótesis nula, que todos los datos provienen de la misma distribución y de esta forma, establecer variaciones entre los valores experimentales. Se empleó igualmente la prueba de correlación de Pearson (Sokal y Rohlf, 1980) para determinar el grado de relación entre los resultados obtenidos de los parámetros evaluados.

Los resultados son presentados en valores promedios, desviación estándar en tablas y figuras. Todos los análisis fueron realizados con el paquete estadístico Statgraphic versión 5.0 en ambiente Windows.

Resultados

La encuesta socioeconómica reveló que el 1,35% de las personas evaluadas, pertenecen al estrato socioeconómico I; 40,54% al estrato socioeconómico II, 47,29% al estrato socioeconómico III y 10,81% al IV. Un 86,48% de la población resultó ser no fumador, 22,97% manifestó consumir alcohol frecuentemente contra un 56,75% que expresaron consumir alcohol ocasionalmente, además un 55,40% realiza algún tipo de actividad física.

En la evaluación nutricional según

el IMC, 15/74 individuos presentaron obesidad grado I (OB) (20,27%); 29/74 presentaron sobrepeso (SP) (39,18%) y 30/74 individuos se encontraron con normopeso (NP) (40,54%). La clasificación por circunferencia de cintura determinó que 33/74 individuos presentaron obesidad abdominal (44,59%) y 41/74 una circunferencia de cintura adecuada (55,40%).

Los valores promedios de los parámetros bioquímicos se observaron en los rangos de referencia tanto para mujeres como para hombres, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los sexos para COL, HDL, LDL, ALB y PT. Se observaron diferencias estadísticamente significativas para las concentraciones de GLU (Hombres: 91,45±25,92 mg/dl; Mujeres: 78,50±8,33 mg/dl; P<0,05), VLDL (Hombres: 28,78±14,16 mg/dl; Mujeres: 24,70±20,95 mg/dl; P<0,05) y TG (Hombres: 143,86±69,93mg/dl; Mujeres: 99,87±39,36 mg/dl; P<0,05) entre sexos, observándose el valor promedio más elevado en los hombres con respecto a las mujeres. En cuanto a los marcadores de estrés oxidativo, se observó diferencias significativas para el ácido úrico, estando más elevado en hombres (Hombre: 4,54±1,27 mg/dl; Mujeres: 3,88±1,05 mg/dl; P<0,05).

La clasificación de los individuos de acuerdo al IMC determinó que los individuos con obesidad muestran los mayores valores de AU (KW=19,96; P<0,05) y bilirrubina directa (BD) (KW=7,99; P<0,05, Figura 1 A y B). Para el resto de los parámetros no hubo diferencias estadísticamente significativas (Tabla 1).

Figura 1. Valores promedio de los marcadores de estrés oxidativo AU (A) y BD (B) analizados según el IMC en adultos, Venezuela. *P<0,05. NP= normopeso, SP= sobrepeso, OB= obesidad.

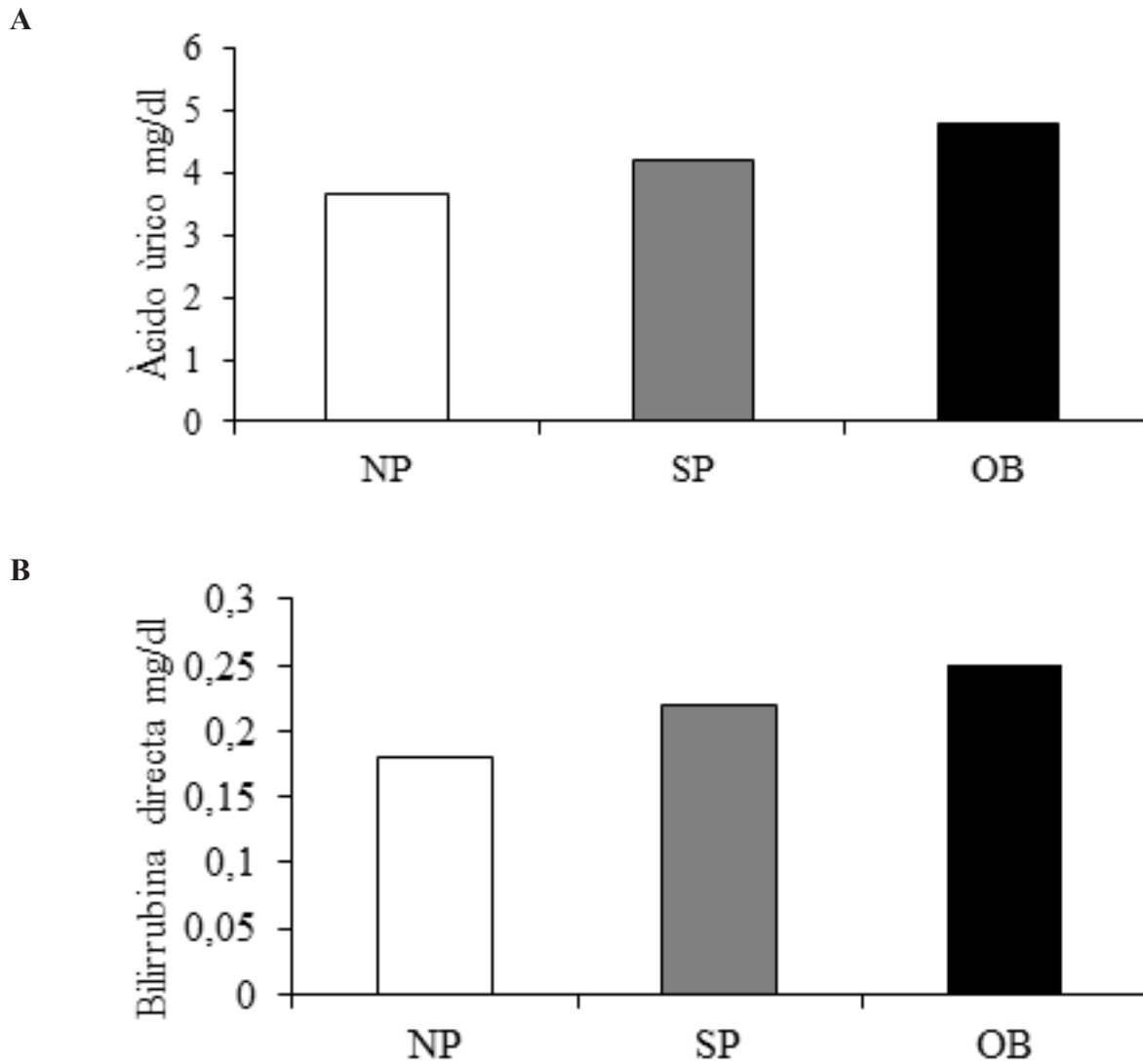


Tabla 1. Valores promedio de los marcadores de estrés oxidativo en adultos clasificados de acuerdo al IMC pertenecientes a la comunidad de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre. Cumaná, estado Sucre.

MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO	Evaluación nutricional (IMC)			Valor P
	Normopeso	Sobrepeso	Obesidad	
	(NP)	(SP)	(OB)	
	X±DE (Min-max)	X±DE (min-max)	X±DE (min-max)	
Albumina (g/dl)	4,67±0,49 (3,38-5,6)	4,64±0,58 (3,5-5,6)	4,47±0,58 (3,5-5,2)	0,65
Proteínas totales (g/dl)	6,86±0,59 (5,5-8,7)	7,12±0,58 (6,23-8,5)	7,11±0,89 (5,2-8,8)	0,26
Bilirrubina Total (mg/dl)	0,72±0,17 (0,35-1,07)	0,80±0,25 (0,25-1,2)	0,87±0,32 (0,51-1,9)	0,16
Bilirrubina Indirecta (mg/dl)	0,53±0,19 (0,11-0,85)	0,57±0,22 (0,15-0,92)	0,61±0,29 (0,23-1,53)	0,55
Tiocol totales (μmol/l)	16,87±10,77 (1,45-47,11)	16,35±9,94 (2,58-38,38)	20,02±17,54 (1,59-75,98)	0,97
Tiocol solubles (μmol/l)	2,92±2,13 (0,73-12,26)	3,12±1,53 (0,75-7,09)	2,95±1,82 (0,90-7,06)	0,54

* P<0,05 estadísticamente significativo; media; DE: desviación estándar; min: valor mínimo; max: valor máximo.

En cuanto a la clasificación de acuerdo a la CC, las concentraciones de AU y BD se mostraron estadísticamente más elevada en los individuos con obesidad abdominal (W=904; 876,5; P<0,05 res-

pectivamente; (Figura 2 A y B). Para el resto de los parámetros no se observó diferencias significativas (Tabla 2). El conteo de leucocitos se encontró significativamente más elevado en los

individuos con obesidad abdominal (ts=-2,47; P<0,05; OA: 6,42±1,49 cel x10¹²/l, NP: 5,65±1,18 cel x10¹²/l).

Figura 2. Concentración de los marcadores de estrés oxidativo AU (A) y BD (B) según la clasificación por circunferencia de cintura en adultos, Venezuela. * $P < 0,05$.

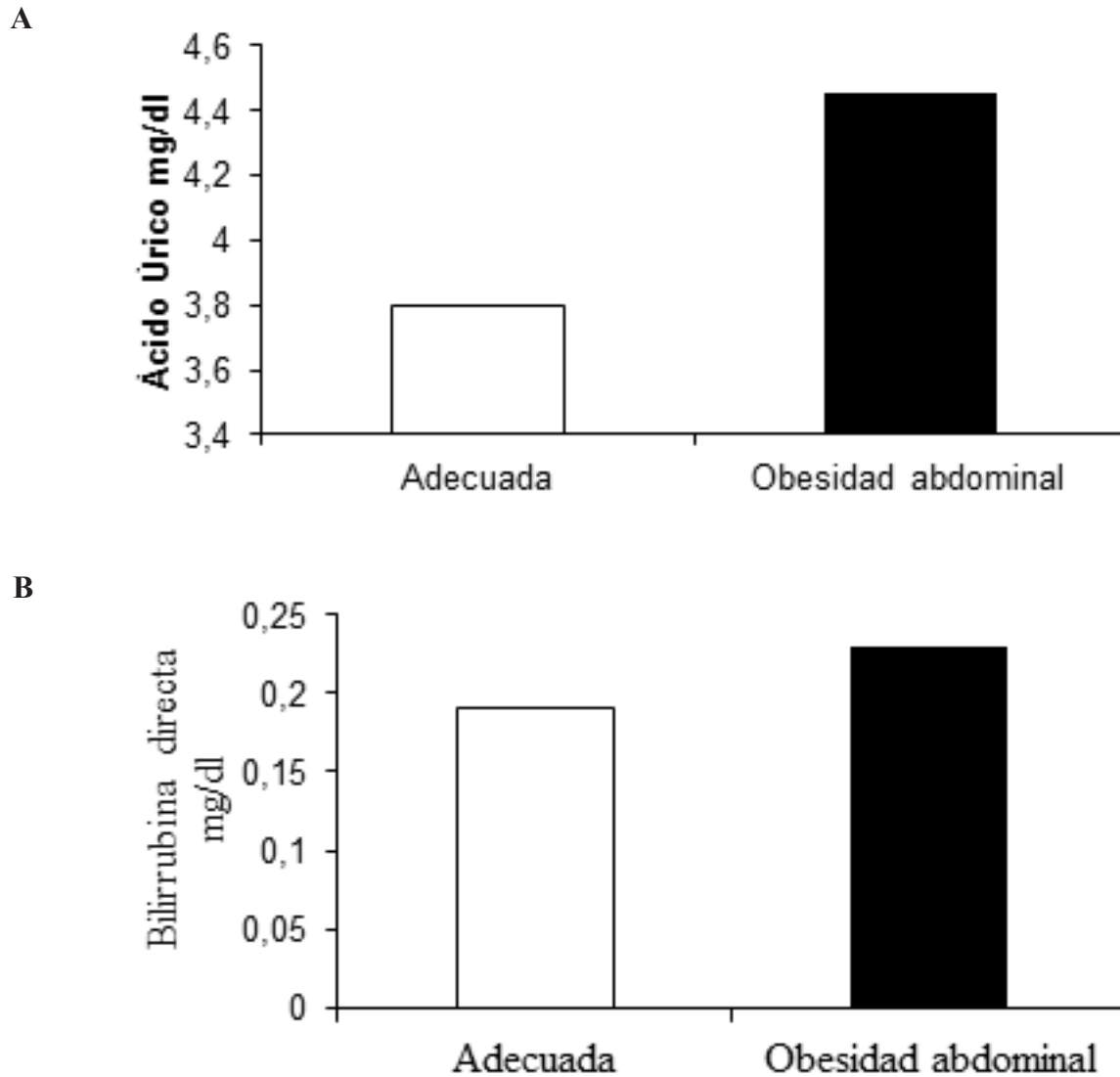


Tabla 2. Valores promedio de los marcadores de estrés oxidativo en adultos clasificados de acuerdo a la circunferencia de cintura pertenecientes a la comunidad de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre. Cumaná, estado Sucre.

MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO	Circunferencia de cintura (CC)		Valor P
	Adecuada X±DE (min-max)	Obesidad abdominal X±DE (min-max)	
Albúmina (g/dl)	4,71±0,49 (3,38-5,6)	4,51±0,59 (3,5-5,6)	0,16
Proteínas totales (g/dl)	6,89±0,59 (5,5-8,7)	7,16±0,71 (5,2-8,8)	0,07
Bilirrubina Total (mg/dl)	0,75±0,22 (0,25-1,2)	0,82±0,26 (0,42-1,9)	0,46
Bilirrubina Indirecta (mg/dl)	0,55±0,21 (0,11-0,86)	0,58±0,24 (0,23-1,53)	0,64
Tioles totales (μmol/l)	17,50±10,90 (1,45-47,11)	17,06±13,50 (1,59-75,98)	0,64
Tioles solubles (μmol/l)	3,06±1,99 (0,73-12,26)	2,94±1,64 (0,75-7,06)	0,97

* P<0,05 estadísticamente significativo; media; DE: desviación estándar; min: valor mínimo; max: valor máximo.

El análisis de correlación determinó una correlación positiva entre el AU y la CC, y entre el conteo de leucocitos y la CC. Además, se observó una correlación positiva entre el conteo de leucocitos y la concentración de AU.

Discusión

En este trabajo se encontró que las personas con obesidad tanto abdominal como corporal, mostraron los valores de ácido úrico y bilirrubina directa en

rangos superiores aunque considerados como normales. Tanto el ácido úrico como la bilirrubina se han identificado como biomarcadores de estrés oxidativo, tanto en personas con sobrepeso como con obesidad y se les considera

predictores de diabetes y de eventos cardiovasculares, (López-Pineda *et al.*, 2018; Borghi *et al.*, 2018) y factores de riesgos para el desarrollo de enfermedades tales como la hipertensión, la diabetes mellitus, el síndrome metabólico y la obesidad (Vitek, 2012).

La Bilirrubina es un biproducto del catabolismo del grupo hemo de la hemoglobina, y se ha demostrado que es un efectivo antioxidante liposoluble *in vitro* e *ex vivo*, pudiendo inhibir las reacciones en cadena de radicales libres (Chen *et al.*, 2018). Altas concentraciones de bilirrubina total en suero se asoció independientemente con una mejor salida en la enfermedad renal cardíaca sugiriendo que tiene un efecto protector en los riñones (Liu *et al.*, 2018). Igualmente, se ha encontrado que pacientes con *Pemphigus vulgaris* muestran bajas concentraciones en suero de bilirrubina total, directa e indirecta y de ácido úrico, lo cual indica que el estatus antioxidante es importante en la patogénesis de esta enfermedad (Li *et al.*, 2018). Estos hallazgos soportan el papel de estas dos moléculas como biomarcadores de estrés oxidativo en diferentes patologías.

La relación positiva entre el conteo leucocitario con la CC corrobora el hecho de que el incremento de la obesidad abdominal induce un proceso inflamatorio crónico. Durante el incremento de la obesidad abdominal, se activan rutas de señalización prooxidantes y proinflamatorias y factores derivados de los adipocitos asociados a las anomalías vasculares relacionadas con la obesidad (Reho y Rahmouni, 2017). La obesidad abdominal y la resistencia a la insulina aumentan el riesgo cardio-

vascular sugiriendo que juegan un rol crucial en la patofisiología de esta asociación (Engin 2017). La relación encontrada entre el AU con la CC; sugiere que ésta molécula juega el rol principal como antioxidante en el incremento de la obesidad abdominal.

Se ha comprobado que el acúmulo excesivo de grasa corporal, principalmente en la región abdominal generan la liberación por los adipocitos de citokinas proinflamatorias tales como el factor de necrosis tumoral y las interleukinas 1 y 6, las cuales pueden actuar sobre las células inmunes conduciendo a una inflamación local y generalizada (Yazıcı y Sezer, 2017; de Mello *et al.*, 2018); esto indica que los individuos con sobrepeso y con alta grasa corporal se encuentran en una etapa intermedia entre la salud y la enfermedad, en donde prevalece un proceso oxidativo crónico. De tal forma que el incremento del ácido úrico y de la bilirrubina directa, sin salir de los rangos de referencia, en las personas obesas estudiadas se relaciona con un proceso de estrés oxidativo generado por la inflamación crónica que se asocia a la obesidad.

Sin embargo, a pesar de que un porcentaje de los individuos presentó obesidad, cabe señalar que sus perfil lipídico y la glicemia se encontró en los rangos de referencia, Esto también ayudado a que en general, estas personas mantienen una alimentación adecuada; además de que en su mayoría realizan alguna actividad física, todos estos factores parecen establecer un balance entre el estrés oxidativo generado por el SP/OB y la respuesta antioxidante del organismo. Sumado a esto, biomar-

caes tales como tioles totales y tioles solubles en ácido no se observaron alterados entre los grupos, esto sugiere que estos individuos se encuentran en los primeros inicios del proceso oxidativo, el cual puede ser revertido con una dieta adecuada y ejercicio físico; además, sus sistemas de defensa antioxidantes no están aún comprometido, respondiendo adecuadamente a este proceso oxidativo en curso generado por la obesidad.

Conclusiones

En este estudio se demuestra que en personas con obesidad y con valores de perfil lipídico y glicemia en los rangos de referencia, el ácido úrico, en primera instancia, y la bilirrubina directa pueden ser considerados como las principales moléculas en la línea de defensa antioxidante.

Referencias Bibliográficas

- Borghi, C. Rodríguez-Artalejo, F. De Backer, G. Dallongeville, J. Medina, J. NUEVO, J. *et al.* (2018). Serum Uric Acid Levels are Associated with Cardiovascular Risk Score: A Post Hoc Analysis of the EURIKA Study. *International Journal of Cardiology*, 253,167-173.
- Chen, W. Maghzal, G.J. Ayer, A. Suarna, C. Dunn, L.L. Stocker R. (2018). Absence of the Biliverdin-Reductase-a Gene is Associated with Increased Endogenous Oxidative Stress. *Free Radical Biology*

- Medicine*, 115, 156-165.
- De Mello, A. H. Costa, A. B. Engel, J. D. Grezin, G.T.(2018). Mitochondrial Dysfunction in Obesity. *Life Science*, 192, 26-32.
- Ellman, G. (1959). Quantitative Determination of Peptides by Sulfhydryl (-SH) Groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82, 70-77.
- Engin, A.(2017). The Pathogenesis of Obesity-Associated Adipose Tissue Inflammation. *Advances in Experimental Medical Biology*, 960, 221-245.
- Hermana, H. ; Hermsdorff, H. ; Puchau, B. ; Volp, A. Barbosa, B. ; Bressan, J. (2011). Dietary Total Antioxidant Capacity is Inversely Related to Central Adiposity as well as to Metabolic and Oxidative Stress Markers in Healthy Young Adults. *Nutrition Metabolism (London)*, 8, 59.
- Hotamisligil, G. (2006). Inflammation and Metabolic Disorders. *Nature*. 444, 860-867.
- Instituto Nacional de Nutrición (INN). (2013). Sobrepeso y obesidad en Venezuela (prevalencia y factores condicionantes). República Bolivariana de Venezuela.
- Kurutas, E. B. (2016). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutrition Journal*, 15(1), 71.
- LI, W.C. MO, L.J. SHI, X. LIN, Z.Y. LI, Y.Y. YANG, Z. et al.(2018). Antioxidant Status of Serum Bilirubin, Uric Acid and Albumin in *Pemphigus vulgaris*. *Clinical and Experimental Dermatology*, 43(2), 158-163.
- LIU, Y. LI, M. SONG, Y. LIU, X. ZHAO, J. DENG, B. et al.(2018). Association of Serum Bilirubin with Renal Outcomes in Han Chinese Patients with Chronic Kidney Disease. *Clinica Chimica Acta*, 480, 9-16.
- Ministerio del Poder Popular para la Ciencia y Tecnología e Industrias Intermedias (MPPCTI). (2011). Código de Ética para la Vida. República Bolivariana de Venezuela.
- Niemann, B. ; Rohrbach, S. ; Miller, M.R.; Newby, D.E.; Fuster, V. ; Kovacic, J.C. (2017). Oxidative Stress and Cardiovascular Risk: Obesity, Diabetes, Smoking, and Pollution: Part 3 of a 3-Part Series., *Journal of the American College of Cardiology*, 70 (2), 230-251.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (1995). Uso e Interpretación de la Antropometría. Ginebra OMS-OPS.
- Reho, J.J.; Rahmouni, K. (2017). Oxidative and Inflammatory Signals in Obesity-Associated Vascular Abnormalities. *Clinical Science (London)*. 131(14):1689-1700.
- Rosas, J. ; Gonzalez, A.; Aschner, P. ; Bastarrachea, R. ; Sinai, I.; Costas A. et al. (2010). Epidemiología, diagnóstico, control, prevención y tratamiento del síndrome metabólico en adultos. *Consensos Asociación Latinoamericana de Diabetes*, 18(1), 25-44.
- Salazar-Lugo, R.; Barahona, A.; Santamaria, M. ; Salas, H.; Oleas, M.; Bermeo, B. (2014). Marcadores de Estrés Oxidativo y su Relación con el Estado Nutricional en Adultos, Ecuador. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 64 (4), 264-270.
- Sedlak, L. (1968). Determination of Total Sulfhydryl Groups in Biological Samples using DNTB. *Analytical Biochemistry*, 25, 192-205.
- Sokal, R.; Rohlf, J. (1980). Biometría, Principios y Métodos Estadísticos en la Investigación Biológica. Editorial Blum. Madrid. pp 120.
- World Medical Association. (2013). World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. *Journal of the American Medical Association*, 310(20), 2191-94.