



Original/*Obesidad*

# Factores que inciden el daño oxidativo en niños con obesidad: estudio piloto

Iván Rentería<sup>1</sup>, Ever Arenas Berumen<sup>1,2</sup>, María Evarista Arellano García<sup>3</sup>, Claudia Esther Carrasco-Legleu<sup>4</sup>, Lidia Guillermina De León-Fierro<sup>4</sup> y Enrique Alejandro Arenas-Berumen<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Deportes Campus Ensenada. Universidad Autónoma de Baja California. <sup>2</sup>Escuela de Ciencias de la Salud Campus Ensenada. Universidad Autónoma de Baja California. <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Campus Ensenada. Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, B.C. <sup>4</sup>Facultad de Ciencias de la Cultura Física, Universidad Autónoma de Chihuahua. <sup>5</sup>Servicios de Salud Pública del Distrito Federal. México.

## Resumen

**Introducción:** La obesidad es un trastorno metabólico que crea condiciones oxidantes, las cuales pueden generar niveles elevados de estrés fisiológico, así como una perturbación en el estado de oxidación-reducción celular conocido como Estrés Oxidativo.

**Objetivo:** Examinar la asociación entre el daño en el ADN cromosómico y la capacidad antioxidante total (TAC) en niños clasificados con obesidad severa.

**Métodos:** En el estudio participaron 11 niños con edad e índice de masa corporal promedio de  $9.5 \pm 1.2$  años y  $27.7 \pm 3.3$  kg/m<sup>2</sup>, respectivamente, de quienes se obtuvieron muestras de sangre entera venosa y se analizó algunos factores de riesgo característicos del síndrome metabólico, así como el número de sitios abásicos (SA) en la molécula de ADN y los niveles de CAT. Los biomarcadores se determinaron utilizando técnicas espectrofotométricas y de ensayo ELISA.

**Resultados:** Se reconocieron en promedio  $4.0 \pm 4.1 \times 10^5$  sitios abásicos en la molécula de ADN y un nivel de concentración en plasma sanguíneo de la Capacidad Antioxidante Total de  $0.218 \pm 0.03$  mmol/L, donde se obtuvo una correlación inversa entre ambas variables ( $r = -0.63$ ,  $p = 0.038$ ,  $r^2 = 0.4$ ). Advirtiéndose un desequilibrio del estado de reducción-oxidación (REDOX) celular.

**Conclusión:** Los valores altos de sitios abásicos y bajos niveles de concentración de la Capacidad Antioxidante Total en presencia de obesidad severa sugieren la existencia de estrés oxidativo, lo que podría considerarse como un factor de riesgo alto, vinculado al desarrollo temprano de comorbilidades asociadas a la obesidad.

(Nutr Hosp. 2015;31:1499-1503)

DOI:10.3305/nh.2015.31.4.8508

Palabras clave: *Estrés oxidativo. Obesidad infantil. Daño a ADN. Capacidad antioxidante total.*

## FACTORS AFFECTING OXIDATIVE DAMAGE IN OBESE CHILDREN: AN EXPLORATORY STUDY

### Abstract

**Introduction:** Obesity is a metabolic disorder that creates oxidizing conditions, which can generate high levels of physiological stress as well as a disturbance in the state of redox cell known as Oxidative Stress.

**Objective:** To examine the association between the damage on chromosomal DNA and the total antioxidant capacity (TAC) in obese children with severe obesity.

**Methods:** Participants were 11 children with a mean age and body mass index of  $9.5 \pm 1.2$  years and  $27.7 \pm 3.3$  kg/m<sup>2</sup>, respectively, from which venous blood samples were obtained to determine distinctive risk factors of metabolic syndrome, the number of DNA abasic sites (AS) and TAC levels. Biomarkers were quantified from spectrophotometric techniques and ELISA assays.

**Results:** Were identified  $4.1 \pm 4.0 \times 10^5$  AS and TAC of  $0.218 \pm 0.03$  mmol/L, and an inverse correlation between AS and TAC ( $r = -0.63$ ,  $p = 0.038$ ). These results suggest an imbalance in reduction-oxidation status (REDOX) within the cell.

**Conclusion:** Increased AS and decreased TAC concentrations in the presence of severe obesity suggest that oxidative stress could be considered as an important risk factor closely linked to the early development of comorbidities associated to obesity.

(Nutr Hosp. 2015;31:1499-1503)

DOI:10.3305/nh.2015.31.4.8508

Key words: *Oxidative stress. Childhood obesity. Damage to DNA. Total antioxidant capacity.*

**Correspondencia:** Claudia Esther Carrasco-Legleu.  
Universidad Autónoma de Chihuahua.  
Circuito Universitario S/N Fracc. Campo Bello.  
C.P. 31124, Chihuahua, Chihuahua, México.  
Apartado Postal 21585.  
E-mail: ccarrasco@uach.mx

Recibido: 10-XII-2014.

Aceptado: 29-XII-2014.

## Introducción

La obesidad es un trastorno metabólico que crea condiciones oxidantes, las cuales pueden generar niveles elevados de estrés fisiológico<sup>1</sup> así como una perturbación en el estado de oxidación-reducción celular conocido como estrés oxidativo<sup>2-4</sup>. El estrés oxidativo (EO) se define como un desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de especies reactivas de oxígeno y radicales libres que provocan un daño oxidativo a puntos susceptibles de macromoléculas celulares como son el ADN, los lípidos de membrana celular y diferentes proteínas que actúan como mensajeros en el proceso de comunicación extracelular, y el cual no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes intracelulares y extracelulares<sup>5,6</sup>.

El ADN genómico es la principal molécula de información para la célula, por consiguiente, un daño a este componente celular representa una amenaza crítica para su funcionalidad<sup>7</sup>. Si el daño es grave o su acumulación excede al proceso de eliminación por los mecanismos de reparación, esto podría desencadenar alteraciones en el proceso de señalización celular, lo que favorecería la aparición de procesos patológicos<sup>4,8</sup>. Se ha estimado que por día se forman  $\approx 10,000$  a  $50,000$  sitios abásicos (SA) en las células de los seres humanos bajo condiciones fisiológicas normales<sup>9</sup>. Un SA es una lesión no codificante que puede llevar a una pérdida de la incorporación de bases durante la replicación y transcripción del ADN y en consecuencia estos sitios deben ser inmediatamente removidos de la molécula<sup>10,11</sup>. Las células para defenderse de este tipo de agresiones cuentan con un sistema de reparación contra los SA que elimina las bases lesionadas, las cuales son un reflejo de la cantidad de bases oxidadas generadas por un daño estructural a la molécula, ya que este tipo de lesiones induce mutaciones por sustitución de bases y en consecuencia una inhibición de la replicación del ADN, lo que podría volverse un factor crítico en el proceso de división celular, ya que cuando una célula se divide con una lesión no reparada en su ADN, el nivel de mutación incrementa de manera significativa<sup>12,13</sup>.

La obesidad ha demostrado ser una de las condiciones que provoca una disminución de la capacidad antioxidante total (CAT) debido a la presencia de EO sistémico por efecto de la oxidación de lípidos de membrana celular<sup>14</sup>, siendo este proceso un factor de riesgo que incrementa considerablemente la aparición de ciertas patologías metabólicas<sup>15</sup>. A fin de comprender los posibles mecanismos subyacentes del EO inducido por la obesidad, el estudio tuvo como propósito principal estudiar la asociación entre el EO y la obesidad infantil, utilizando como indicadores el daño oxidativo a la molécula de ADN y los niveles de concentración de CAT.

## Objetivos

Examinar la asociación entre el daño en el ADN cromosómico y la capacidad antioxidante total (TAC) en niños clasificados con obesidad severa.

## Métodos

En el estudio participaron 11 niños de 8 a 11 años de edad, usuarios de una institución de salud en la ciudad de Chihuahua, México. Previamente se obtuvo el consentimiento informado de los padres o responsables legales para autorizar su participación en el estudio. Los participantes se diagnosticaron con obesidad severa en base a los lineamientos de la Secretaría de Salud de México<sup>16</sup> y que también son señalados por el Reporte de Estadística en Salud de los Estados Unidos de América<sup>17</sup>. También se utilizó la clasificación percentilar de la circunferencia de cintura (CC) reportada por McCarthy<sup>18</sup> para corroborar que los niños padecían de obesidad severa.

La masa corporal, la estatura y la CC se determinaron por el método antropométrico de la Sociedad Internacional para el Desarrollo de la Cineantropometría<sup>19</sup>. Las mediciones fueron realizadas por duplicado y con un error técnico de medición menor o igual al 1%. La toma de muestra sanguínea fue realizada por personal de la institución de salud a la que pertenecían los niños evaluados, determinándose la Glucosa Venosa en Ayuno, el Colesterol Total, las Lipoproteínas de Alta (HDL) y Baja (LDL) Densidad y los Triglicéridos, se utilizó técnicas enzimático-colorimétricas, que implicaron la cuantificación de la absorbancia generada por la reacción de la muestra con los reactivos enzimáticos, valor que se utilizó para determinar la concentración de cada analito sanguíneo. Para obtener el ADN se separó una alícuota de sangre total; mientras que para la determinación de la CAT fue utilizado el plasma sanguíneo. La extracción y purificación del ADN genómico se realizó con el reactivo GE HEALTHCARE, *illustra blood genomicPrep Mini Spin Kit* (cat. 28-9042-64). La cuantificación del ADN se realizó en un espectrofotómetro BIORAD (*Smart SpecTM 3000*) a una absorbancia de 260/280 nm y su integridad se observó en un gel de Agarosa al 0.8% 5 $\mu$ l/muestra por medio de un transiluminador UV.

Los SA fueron determinados por medio del kit de la casa comercial BioVision (K253-25) donde se preparó la curva estándar utilizando los datos obtenidos con las soluciones estándar de ARP-DNA, donde el número de SA alterados en las muestras de ADN fue representado por 105 pares de bases en cada muestra de ADN genómico.

La técnica para medir la CAT se efectuó con base en las recomendaciones del proveedor BioVision (K274-100), para lo cual se adicionó 100 $\mu$ l de solución de trabajo con Cu<sup>++</sup> a las muestras de plasma y los estándares para la curva en placa de 96 pozos. Se incubó a

temperatura ambiente por 1.5 h cubriendo la placa de la luz. Finalmente, se realizó la lectura de la placa a una absorbancia de 550 nm. El valor exacto de concentración de la CAT se expresó en mM de equivalentes de Trolox.

Se utilizó el Programa Stat-Soft® v9 para calcular la estadística descriptiva de las características antropométricas y bioquímicas del grupo de estudio y se efectuó un análisis de regresión lineal simple por mínimos cuadrados para determinar la función de regresión entre la CAT y los SA con intervalos de confianza al 95%, así como el respectivo coeficiente de determinación ( $r^2$ ).

## Resultados

La tabla I presenta las características antropométricas y bioquímicas de la muestra estudiada. Los valores promedio del IMC ( $27.7 \pm 3.3$  kg/m<sup>2</sup>) y de CC ( $91 \pm 3.3$  cm) se ubican sobre el percentil 97 según los valores de referencia<sup>17,20</sup>. El promedio de SA se encuentra en el límite superior como lo establecido como normal en humanos<sup>9</sup>. El valor de la CAT se presenta disminuido en comparación con una muestra de niños con síndrome metabólico reportada en un estudio similar<sup>21</sup>. En la figura 1 se presenta un análisis de agregamiento de las variables que se midieron en los integrantes del grupo de estudio, para lo cual se utilizó el coeficiente de distancia euclidiana como medida de asociación y una estrategia de agrupación completa. Se conformaron tres agrupamientos que revelaron cuáles variables presentan un mayor grado de asociación con el

daño oxidativo de la molécula de ADN y la CAT. El análisis muestra que las variables de daño oxidativo a nivel celular, presentaron una fuerte asociación con indicadores relacionados con la adiposidad corporal y del estado nutricional como lo es el IMC, asimismo al fusionarse en un nuevo cluster con los factores de riesgo del síndrome metabólico, sugiere que no existe un mecanismo subyacente único que explique el daño oxidativo a la molécula de ADN en niños que padecen obesidad. La figura 2 muestra una relación inversamente proporcional ( $r = -0.63$ ) entre los SA y la CAT, cuya función lineal es  $Y = 20.4 - 74.9(X)$ , la cual presentó un coeficiente de determinación  $r^2 = 0.4$  ( $p = 0.04$ ), lo cual indica que en este grupo de niños el número SA en el ADN disminuyen a razón de 75 por cada unidad de CAT.

## Discusión

Para ampliar el alcance del estudio, los investigadores realizaron un análisis de agregamiento tomando en cuenta los posibles vínculos entre los indicadores de riesgo antropométricos y metabólicos más utilizados por estudios epidemiológicos<sup>22,23</sup> como factores que inciden en la obesidad infantil. El análisis global de la posible agrupación de factores que intervienen en la obesidad infantil, a posteriori mostró solamente un resultado con significancia estadística, indicando que algunos niños con obesidad grave presentan valores de SA considerablemente superiores a lo establecido como normal en humanos<sup>9</sup>. Es posible que este tipo de lesiones pueda ser un indicador de la presencia de

**Tabla I**  
*Características Antropométricas y Bioquímicas de la muestra estudiada*

<i>Variable (n= 11)</i>	<i>Media (± DE)</i>	<i>Valor de referencia</i>
Edad (años)	9.5 (± 1.2)	NA
Peso (kg)	55.4 (±9.1)	35.4 (±7.8) <sup>a</sup>
Estatura (cm)	141.1 (± 6.6)	137.4 (±5.9) <sup>a</sup>
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	27.7 (± 3.3)	18.6 (±3.18) <sup>a</sup>
CC (cm)	91 (± 7.1)	58.1 (±5.6) <sup>b</sup>
SA x 10 <sup>5</sup>	4 x 10 <sup>5</sup> (± 4.1)	1-5 x 10 <sup>5</sup> <sup>c</sup>
CAT (mmol/L)	0.218 (± 0.03)	1.6 (±0.4) <sup>d</sup>
GVA (mg dl <sup>-1</sup> )	96(±4.5)	70 – 100 <sup>e</sup>
TG (mg dl <sup>-1</sup> )	87.7(±38.1)	149.7 (±95.1) <sup>f</sup>
CT (mg.dl-1)	187.3(±27)	177.6 (±47.1) <sup>f</sup>
LDL (mg.dl-1)	117.1(±21.4)	115.5 (±44.6) <sup>f</sup>
HDL (mg.dl-1)	52.4(±11.7)	37.0 (±8.2) <sup>f</sup>

(DE) Desviación Estándar, (IMC) Índice de Masa Corporal, (CC) Circunferencia de Cintura Mínima, (SA) Sitios Abásicos, (CAT) Capacidad Antioxidante Total, (NA) No Aplica, <sup>a</sup>Carrascosa et al. (2008), <sup>b</sup>McCarthy et al. (2001), <sup>c</sup>Greenberg (2014), <sup>d</sup>Molnar et al. (2004), Glucosa Venosa en Ayuno (GVA) <sup>e</sup>Valor de referencia obtenido de la Asociación Americana de la Diabetes (ADA), Triglicéridos (TG), Colesterol Total (CT), Lipoproteínas de Baja Densidad (LDL), Lipoproteínas de Alta Densidad (HDL) <sup>f</sup>Romero-Velarde et al. (2007).

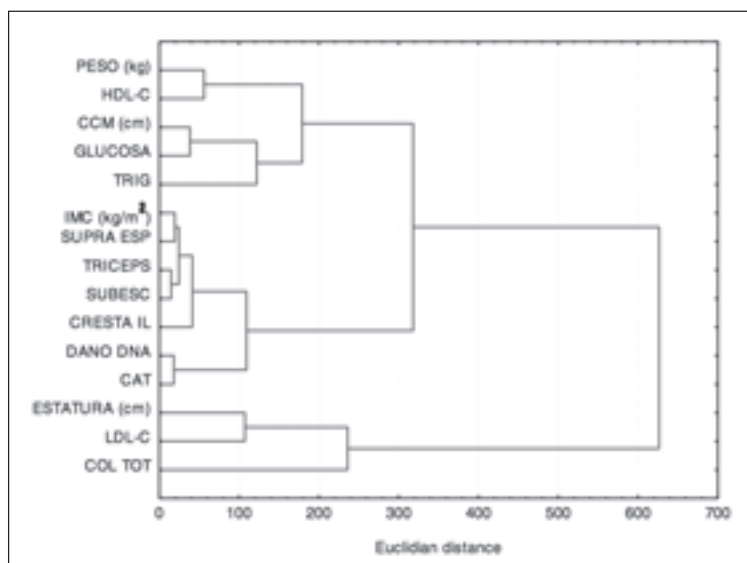


Fig. 1.—Dendrograma de agrupación completa utilizando el coeficiente de distancia euclidiana como medida de asociación. El análisis muestra que las variables de daño oxidativo a nivel celular, presentaron una fuerte asociación con indicadores relacionados con la adiposidad corporal y del estado nutricional.

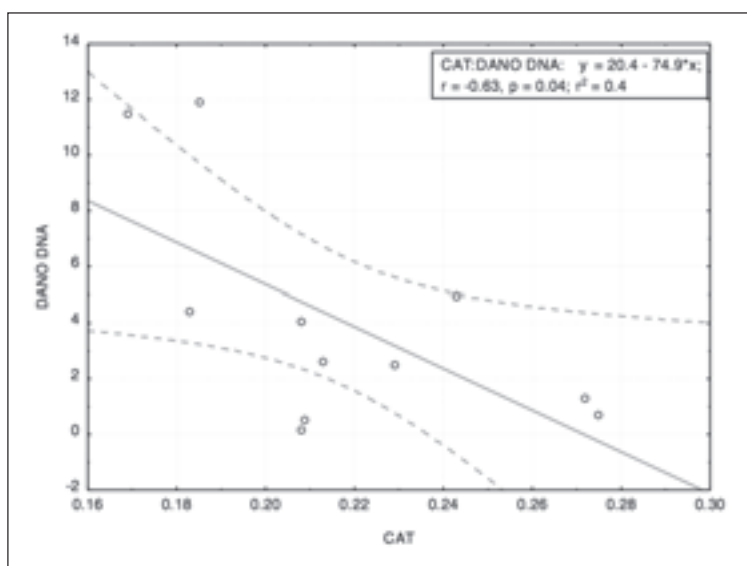


Fig. 2.—Asociación entre las variables de Estrés Oxidativo. Se identificó la relación de los marcadores de estrés oxidativo Sa y CAT observando una relación indirecta, en los niños con obesidad.

daño oxidativo a la molécula de ADN; sin embargo, no se pudo establecer el grado de deterioro debido a que, hasta el momento no existe un mecanismo subyacente único que pueda explicar de forma clara estos resultados preliminares, por lo que no se permite inferir el origen de tal alteración, toda vez que la ausencia de reparación de estos sitios perjudicados puede ser causada por otros factores confusores, entre los que se encuentran agentes ambientales o de origen alimentario que no pudieron ser controlados en este estudio, y desde luego la condición de obesidad severa, así como niveles disminuidos en la concentración de la CAT<sup>24</sup>. Sin embargo, al presentarse una asociación inversamente significativa entre la cantidad de daño oxidativo a la molécula de ADN y una disminución en la concentración de la CAT, esto podría reflejar procesos de EO a nivel celular debido a que se está produciendo una ma-

yor utilización de sustancias antioxidantes como una respuesta compensatoria para abatir el posible daño generado a la molécula de ADN por una excesiva oxidación de los lípidos de la membrana celular<sup>25</sup>.

Este es un estudio exploratorio y en su diseño no se contó con un grupo control, lo cual dificultó la interpretación de los resultados para descartar otras variables de interacción como el estado de maduración física y funcional de los sujetos que pudieran reflejar un desbalance en los procesos intrínsecos de las células causándoles un incremento en los niveles de EO. No obstante, aunque es necesario realizar más estudios que contemplen un aumento en el tamaño de la muestra y la presencia de grupo control, los resultados sugieren que la obesidad infantil puede aumentar el riesgo a desarrollar padecimientos relacionados con el estrés oxidativo sistémico.

## Referencias

1. Cordero MA, López AS, López CP, Mendoza JG, Villar NM, Perona J, et al. Influencia de un programa de actividad física en niños y adolescentes obesos. Evaluación del estrés fisiológico mediante compuestos en la saliva. Protocolo de estudio. *Nutrición Hospitalaria*. 2012;27(3):17-20.
2. Martin-Gallan P, Carrascosa A, Gussinye M, Dominguez C. Oxidative stress in childhood type 1 diabetes: Results from a study covering the first 20 years of evolution. *Free radical research*. 2007;41(8):919-28. Epub 2007/07/27.
3. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *The Journal of clinical investigation*. 2004;114(12):1752-61. Epub 2004/12/16.
4. Thannickal VJ, Fanburg BL. Reactive oxygen species in cell signaling. *American journal of physiology Lung cellular and molecular physiology*. 2000;279(6):L1005-28. Epub 2000/11/15.
5. Tursi Ríspoli LD, Vázquez Tarragón A, Vázquez Prado A, Sáez Tormo G, Ismail AM, Gumbau Puchol V. Estrés oxidativo: estudio comparativo entre un grupo de población normal y un grupo de población obesa mórbida. *Nutrición Hospitalaria*. 2013;28(3):671-5.
6. Thannickal VJ. Oxygen in the evolution of complex life and the price we pay. *American journal of respiratory cell and molecular biology*. 2009;40(5):507-10. Epub 2008/11/04.
7. Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and cellular biochemistry*. 2004;266(1-2):37-56. Epub 2005/01/14.
8. Lonkar P, Dedon PC. Reactive species and DNA damage in chronic inflammation: reconciling chemical mechanisms and biological fates. *International journal of cancer Journal international du cancer*. 2011;128(9):1999-2009. Epub 2011/03/10.
9. Greenberg MM. Abasic and oxidized abasic site reactivity in DNA: enzyme inhibition, cross-linking, and nucleosome catalyzed reactions. *Accounts of chemical research*. 2014;47(2):646-55. Epub 2013/12/29.
10. Swartz CD, King LC, Nesnow S, Umbach DM, Kumar S, Sikkka H, et al. Mutagenicity, stable DNA adducts, and abasic sites induced in Salmonella by phenanthro[3,4-b]- and phenanthro[4,3-b]thiophenes, sulfur analogs of benzo[c]phenanthrene. *Mutation research*. 2009;661(1-2):47-56. Epub 2008/12/02.
11. Nakamura J, Walker VE, Upton PB, Chiang SY, Kow YW, Swenberg JA. Highly sensitive apurinic/apyrimidinic site assay can detect spontaneous and chemically induced depurination under physiological conditions. *Cancer research*. 1998;58(2):222-5. Epub 1998/01/27.
12. Podlutzky AJ, Dianova, II, Podust VN, Bohr VA, Dianov GL. Human DNA polymerase beta initiates DNA synthesis during long-patch repair of reduced AP sites in DNA. *The EMBO journal*. 2001;20(6):1477-82. Epub 2001/03/17.
13. Maynard S, Schurman SH, Harboe C, de Souza-Pinto NC, Bohr VA. Base excision repair of oxidative DNA damage and association with cancer and aging. *Carcinogenesis*. 2009;30(1):2-10. Epub 2008/11/04.
14. Blair IA. DNA adducts with lipid peroxidation products. *The Journal of biological chemistry*. 2008;283(23):15545-9. Epub 2008/02/21.
15. Vincent HK, Taylor AG. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *International journal of obesity (2005)*. 2006;30(3):400-18. Epub 2005/11/23.
16. Pública INdS, Salud Sd. Obesidad Infantil. Boletín de Práctica Médica Efectiva. In: Pública INdS, editor. Cuernavaca, Morelos, México: Instituto Nacional de Salud Pública; 2006.
17. Ogden CL, Flegal KM. Changes in terminology for childhood overweight and obesity. *National health statistics reports*. 2010(25):1-5. Epub 2010/10/14.
18. McCarthy HD, Jarrett KV, Crawley HF. The development of waist circumference percentiles in British children aged 5.0-16.9 y. *European journal of clinical nutrition*. 2001;55(10):902-7. Epub 2001/10/11.
19. Kinanthropometry ISftAo. International Standards for Anthropometric Assessment. School of Physical Education, Exercise and Sport Studies. The University of South Australia: The International Society for the Advancement of Kinanthropometry; 2001.
20. Kuczmariski RJ, Ogden CL, Guo SS, Grummer-Strawn LM, Flegal KM, Mei Z, et al. 2000 CDC Growth Charts for the United States: methods and development. *Vital and health statistics Series 11, Data from the national health survey*. 2002(246):1-190. Epub 2002/06/05.
21. Molnar D, Decsi T, Koletzko B. Reduced antioxidant status in obese children with multimetabolic syndrome. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2004;28(10):1197-202. Epub 2004/08/18.
22. Freedman DS, Serdula MK, Srinivasan SR, Berenson GS. Relation of circumferences and skinfold thicknesses to lipid and insulin concentrations in children and adolescents: the Bogalusa Heart Study. *The American journal of clinical nutrition*. 1999;69(2):308-17. Epub 1999/02/16.
23. Kakinami L, Henderson M, Chioloro A, Cole TJ, Paradis G. Identifying the best body mass index metric to assess adiposity change in children. *Archives of disease in childhood*. 2014;99(11):1020-4. Epub 2014/05/21.
24. Olusi SO. Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2002;26(9):1159-64. Epub 2002/08/21.
25. Ozaydin A, Onaran I, Yesim TE, Sargin H, Avsar K, Sultuybek G. Increased glutathione conjugate transport: a possible compensatory protection mechanism against oxidative stress in obesity? *International journal of obesity (2005)*. 2006;30(1):134-40. Epub 2005/10/19.
26. Romero-Velarde E, Campollo-Rivas O, Celis de la Rosa A, Vasquez-Garibay EM, Castro-Hernandez JF, Cruz-Osorio RM. [Risk factors for dyslipidemia in obese children and adolescents]. *Salud pública de México*. 2007;49(2):103-8. Epub 2007/05/25. Factores de riesgo de dislipidemia en niños y adolescentes con obesidad.