

Marcadores de daño oxidativo y defensa antioxidante en pacientes con enfermedades de origen genético.

Markers of oxidative damage and antioxidant capacity in patient with congenital genetic diseases.

Yaisa Castillo Casañas,^I Gretel Riverón Forment,^{II} Paulina Araceli Lantigua Cruz,^{III} Lisset Evelyn Fuentes Smith,^{IV} Laritza Martínez Rey,^V Ligia Marcos Placencia,^{VI} Roberto Lardoeyt Ferrer,^{VII} Gisselle Lemus Molina,^{VIII} Yohandra Calixto Robert,^{IX} Olivia Martínez Bonne,^X Mildrey Cásido Rodríguez,^{XI} Leyenis Valdés Ramos,^{XII} Denia Tassé Vila.^{XIII}

Resumen

Las enfermedades de origen genético son causa de morbilidad pediátrica, discapacidad progresiva y generalmente presentan un desenlace fatal. El estrés oxidativo (EO) es importante en el desarrollo de múltiples enfermedades genéticas. Los objetivos de esta investigación son determinar los niveles de marcadores de daño oxidativo y capacidad de defensa antioxidante endógena en pacientes con enfermedades de origen genético. Se realizó un estudio descriptivo transversal donde la muestra estuvo conformada por 58 pacientes de ambos sexos en edades pediátricas, divididos en tres grupos según la enfermedad genética. La población control estuvo conformada por 41 individuos de ambos sexos aparentemente sanos, en el mismo rango de edad de los casos. Empleando métodos espectrofotométricos se determinaron los marcadores de daño oxidativo: FOX y MDA así como los marcadores de capacidad antioxidante: las actividades enzimáticas de la Cu-Zn SOD, Catalasa, GPx y GR, así como el ensayo FRAP. Los pacientes con enfermedades mitocondriales presentaron aumentado el FOX y baja actividad de la Cu-Zn SOD. En pacientes con errores innatos del metabolismo se obtuvo baja actividad de la Cu-Zn SOD y un aumento de FRAP. En los pacientes con enfermedades neuromusculares no se encontraron alteraciones significativas en los marcadores analizados. Los pacientes con enfermedades mitocondriales y errores innatos del metabolismo presentan alteraciones en el estado redox celular con modificaciones en los mecanismos de defensa antioxidante. Los resultados derivados de este estudio podrían ser el punto de partida para estudios posteriores que aborden la aplicación de estrategias terapéuticas basadas en antioxidantes en estos pacientes.

Palabras clave: Estrés oxidativo, daño oxidativo, defensa antioxidante, especies reactivas del oxígeno, errores innatos del metabolismo, enfermedades mitocondriales, enfermedades neuromusculares.

Abstract

Genetic diseases are cause of pediatric morbidity, progressive disability and often have a fatal outcome. Although the oxidative stress is not the etiologic factor in these conditions, several reports settle the involvement of oxidative stress in many of these diseases. The aim of this study was to determine the levels of markers of oxidative damage and endogenous antioxidant defense capacity in a group of patients with congenital genetic diseases. We performed a cross-sectional descriptive study. The sample consisted of 58 pediatric patients, treated at the National Medical Genetics Center, in the period between January 2010 and December 2012. Patients were grouped considering the genetic disease present in three groups: Mitochondrial diseases, inborn errors of metabolism and neuromuscular disease. A reference population of 41 control individuals was also tested. Samples were evaluated for markers of oxidative damage to lipids and proteins, total peroxides and advanced oxidation products of proteins. We also determined the activities of antioxidant enzymes: Cu-Zn superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase as well as total antioxidant capacity, as markers of antioxidant capacity. All techniques were performed using spectrophotometric methods. Patients with mitochondrial diseases showed the highest plasma concentrations of peroxides and a low activity of Cu - Zn superoxide dismutase. The group of patients with inborn errors of metabolism showed a decrease in the activity of this enzyme and showed the highest values of plasmatic total antioxidant capacity. In the group of patients with neuromuscular disease, no significant alterations in the analyzed markers were found. These genetic diseases may have a common alteration factor in the cellular redox state changes in antioxidant defense mechanisms. The results from this study could be the support for other studies for the application of therapeutic strategies based on the use of antioxidants in these genetic diseases.

Keywords: Oxidative stress, oxidative damage, antioxidants enzymes, reactive oxygen species, inborn errors of metabolism, mitochondrial disease, neuromuscular disorder.

Introducción

El mantenimiento de la homeostasis redox celular resulta clave para el buen funcionamiento de múltiples procesos bioquímicos y fisiológicos^{1,2}. En determinadas condiciones patológicas, cuando las concentraciones de las especies oxidantes se elevan, se pierde este equilibrio y como consecuencia aumentan las modificaciones oxidativas de las macromoléculas esenciales. A su vez, estos eventos conducen a la alteración o ruptura de las vías de señalización y el control redox celular, estableciéndose lo que se ha denominado como Estrés Oxidativo (EO).³ El análisis de las acciones, mediadas por estas especies oxidantes, que por un lado pueden modificar las estructuras celulares y por el otro, controlar funciones vitales para las células, resulta un aspecto crucial en el estudio de los mecanismos patogénicos subyacentes en las enfermedades.

Las enfermedades de origen genético son causa de morbilidad pediátrica, con una amplia variedad de motivos de consulta, de discapacidad progresiva en el niño y en múltiples ocasiones conllevan a un

descenlace fatal, razones por las cuales generan un alto impacto a nivel individual, de la familia y la sociedad. Cuba dedica especial interés al estudio de las enfermedades genéticas, las discapacidades y a la atención de las personas que las presenten. Aunque se conoce que el EO no es el factor etiológico en estas condiciones, existen reportes sobre la contribución del EO a la fisiopatología de las enfermedades genéticas;⁴⁻⁷ sin embargo, aún no está del todo esclarecido como las modificaciones del estado redox celular pueden mediar en las enfermedades de origen genético. Por otra parte, la mayoría de las investigaciones en relación con estos trastornos se han centrado en los aspectos clínicos, bioquímicos y moleculares, con el fin de describir los defectos genéticos subyacentes. A pesar de los avances logrados en estos campos, las opciones terapéuticas para la gran mayoría de estas enfermedades son muy limitadas. En este sentido, el conocimiento de las alteraciones en el estado redox celular podría proporcionar nuevos enfoques terapéuticos y de rehabilitación en los pacientes que padecen estas entidades, cuya terapia curativa aún no

^I Licenciada en Microbiología. Reserva Científica. Laboratorio de Estrés Oxidativo. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

^{II} Licenciada en Bioquímica, Investigador Auxiliar, Profesor Asistente. MSc. en Bioquímica Clínica. Laboratorio de Estrés Oxidativo. Centro Nacional de Genética Médica.

^{III} Especialista de II grado en Genética Clínica, Profesora Titular e Investigadora Titular. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

^{IV} Investigador Agregado. Licenciada en Matemáticas. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

^V Especialista de I grado en Genética Clínica, Profesora Asistente. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

^{VI} Dra. en Ciencias. Especialista de II grado en Nutrición y en Pediatría. MSc. en Nutrición. Investigador Auxiliar. Consulta Nutrición. Instituto de Neurología y Neurocirugía. La Habana, Cuba.

^{VII} Especialista de II grado en Genética Clínica, Profesor Titular. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

^{VIII} Licenciada en Tecnología de Salud, Aspirante a Investigador. Laboratorio de Estrés Oxidativo. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

^{IX} Especialista de I grado en Medicina General Integral y Genética Clínica. Profesor Instructor. Hospital Pediátrico Juan Manuel Márquez. La Habana, Cuba.

^X Especialista II en Investigación, Innovación y Desarrollo. Laboratorio de Estrés Oxidativo. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

^{XI} Especialista II en Investigación, Innovación y Desarrollo. Laboratorio de Estrés Oxidativo. Centro Nacional de Genética Médica. Laboratorio de Estrés Oxidativo. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

^{XII} Especialista II en Investigación, Innovación y Desarrollo. Laboratorio de Estrés Oxidativo. Centro Nacional de Genética Médica. Laboratorio de Estrés Oxidativo. Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

^{XIII} Licenciada en Enfermería. Master en Asesoramiento Genético. Profesor instructor. Hospital Pediátrico Juan Manuel Márquez. La Habana, Cuba.

es una realidad.

Tomando en consideración estos planteamientos, la siguiente investigación tuvo como propósito determinar los niveles de marcadores de daño oxidativo y defensa antioxidante, en varios grupos de enfermedades genéticas, las que podrían tener como factor común alteraciones oxidativas a nivel de las macromoléculas, a pesar de las diferencias genotípicas entre ellas. Los hallazgos relacionados a alteraciones en la homeostasis redox en estos desórdenes, además podrían proveer nuevas informaciones para la interpretación de los diversos mecanismos patogénicos implicados, los que en algunas de estas entidades no pueden ser explicados solamente por las mutaciones en los genes involucrados. Por otra parte, una vez conocidas las alteraciones del estado redox en este grupo de enfermedades de origen genético, podrían realizarse estudios posteriores que aborden la aplicación de estrategias terapéuticas basadas en la utilización de antioxidantes en estos pacientes.

Materiales y métodos

Tipo de estudio

Se realizó un estudio descriptivo de tipo transversal en el periodo comprendido entre enero 2010 y diciembre 2012. Los pacientes incluidos en la presente investigación fueron atendidos en las consultas especializadas de genética clínica del Hospital Pediátrico Juan Manuel Márquez y en el Instituto de Neurología y Neurocirugía, instituciones radicadas en La Habana y asociadas a la Red Nacional de Genética Médica de Cuba.

Selección de los participantes

La muestra estuvo conformada por 58 pacientes con enfermedades de origen genético, los que fueron agrupados atendiendo al tipo de enfermedad genética en tres grupos (Tabla 1). Para esta selección, se

tuvieron en cuenta los criterios clínicos diagnósticos de cada una de las enfermedades incluidas aportados por los médicos especialistas participantes en la investigación. En el grupo con enfermedades mitocondriales (MIT) se incluyeron pacientes con diagnóstico de miopatías y encefalopatías mitocondriales, en el grupo con errores innatos del metabolismo (EIM), solo se incluyeron pacientes con trastornos del metabolismo de los aminoácidos y enfermedades por depósito. El grupo de pacientes con enfermedades neuromusculares abarcaba pacientes con Distrofia Muscular de Duchenne, Distrofia miotónica tipo 1, Atrofia muscular espinal y con Miopatías congénitas estructurales. Fueron excluidos aquellos casos que estuvieran consumiendo suplementos vitamínicos o antioxidantes en el momento del estudio, que presentaran enfermedades infecciosas agudas en el mes anterior a la toma de muestras, que hubieran recibido radiaciones (rayos X) en la semana anterior al estudio y/o que sufrieran enfermedades relacionadas al estrés oxidativo no relacionadas a la enfermedad genética de base.

En el grupo control fueron incluidos 41 sujetos aparentemente sanos, en el mismo rango de edades de los pacientes. Los mismos no presentaron antecedentes familiares de las enfermedades genéticas abordadas en la investigación, con buen estado de salud general comprobada previa anamnesis y pruebas de laboratorio clínico. Además se verificó la no utilización de suplementos antioxidantes.

Aspectos éticos

Como los pacientes y controles incluidos en el estudio se encuentran en edades pediátricas, se tomó en consideración que sus padres o tutores ofrecieran el consentimiento de que sus hijos participaran en la presente investigación, mediante la firma de la planilla de consentimiento informado, siguiendo los aspectos

Tabla 1. Distribución de los pacientes en los 3 grupos de enfermedades genéticas y los controles incluidos en la investigación y datos demográficos de todos los participantes (sexo y edad).

	Masculino	Femenino	Total	Edad promedio \pm DS (años)
Pacientes				
Enfermedades Mitocondriales (MIT)	4	5	9	11,20 \pm 7,17
Errores Innatos del Metabolismo (EIM)	12	3	15	8,40 \pm 6,24
Enfermedades Neuromusculares (NM)	25	9	34	10,82 \pm 5,29
Controles	20	21	41	8,07 \pm 8,5

DS: Desviación estándar.

Fuente de datos: Base de datos de la investigación. Laboratorio de Estrés Oxidativo. Centro Nacional de Genética Médica.

éticos expuestos en la Declaración de Helsinki de 1975, modificada en el 2013. El protocolo de investigación fue revisado y aprobado por el Comité de Ética de la Investigación Científica del Centro Nacional de Genética Médica (CNGM).

Obtención y conservación de las muestras

En el estudio se utilizó como muestra biológica sangre venosa periférica. La extracción se realizó en ayunas, mediante punción venosa en los laboratorios clínicos de los referidos centros asistenciales y las muestras fueron procesadas en el laboratorio de Estrés Oxidativo del CNGM. Para la realización de los marcadores de daño oxidativo y defensa antioxidante se extrajeron 5 ml de sangre en un tubo con EDTA como anticoagulante. El plasma se separó por centrifugación (250 g durante 15 minutos a 4 °C) y los eritrocitos se lavaron 3 veces con solución de NaCl 0,9 % fría y se lisaron con agua destilada fría (1:4), para obtener el lisado de eritrocitos. Todas las muestras se almacenaron a -20 °C hasta la determinación de los marcadores que no superó los diez días.

Marcadores de daño oxidativo:

1. Determinación de las concentraciones plasmáticas de peróxidos totales (FOX):

La determinación de peróxido de hidrógeno (hidroperóxidos totales) se realizó mediante el método descrito por Harma M y col.⁸ La lectura de la absorbancia se realizó en un Lector de placas SUMA PR-521 (TECNOSUMA, Cuba). Los resultados fueron expresados en $\mu\text{mol/L}$.

2. Determinación de las concentraciones plasmáticas de los productos avanzados de la oxidación de proteínas (PAOP).

La determinación en plasma de los PAOP se realizó mediante la técnica espectrofotométrica descrita por Witko Sarsat y col.⁹ La lectura de la absorbancia se realizó en un espectrofotómetro VS-850 (TECNOSUMA, Cuba). Los resultados fueron expresados en $\mu\text{mol/L}$.

Marcadores de defensa antioxidante:

1. Actividad de la enzima Cu-Zn superóxido dismutasa intraeritrocitaria (SOD1).

La actividad intraeritrocitaria de la SOD1 se determinó mediante un método cinético indirecto, que se basa en la capacidad de esta enzima para inhibir la reacción de autooxidación del pirogalol. Para el cálculo de la actividad se tiene en cuenta que 1 unidad de actividad enzimática (UAE) es capaz de inhibir el 50 % de la autooxidación del pirogalol.¹⁰ La lectura

de la absorbancia se realizó en un espectrofotómetro VS-850 (TECNOSUMA, Cuba). Las unidades fueron expresadas en % de inhibición /ml (U/ml).

2. Actividad de la enzima catalasa intraeritrocitaria (CAT).

La determinación de la actividad enzimática de la CAT se realizó empleando un ensayo cinético directo, basado en la medición de la variación de la densidad óptica que se produce por la descomposición del peróxido de hidrógeno (H_2O_2), sustrato de esta enzima¹⁰. La lectura de la absorbancia se realizó en un espectrofotómetro UV-VIS Genesys 8 (SPECTRONIC UNICAM, UK). Las unidades de actividad enzimática fueron expresadas en mmoles de H_2O_2 transformados /minuto/ ml (U/ml).

3. Actividad de la enzima Glutación Peroxidasa celular (GPx).

La determinación de la actividad enzimática de la GPx se realizó como se describe en el estuche reactivo BIOXYTECH® c-GPx-340™ (OXIS Research, Portland, USA). La lectura se realizó durante 3 minutos en un espectrofotómetro UV-VIS Genesys 8 (SPECTRONIC UNICAM, UK). Las unidades de actividad enzimática se expresaron en mU/ml.

4. Actividad enzimática de glutación reductasa intraeritrocitaria (GR).

La determinación de la actividad enzimática intraeritrocitaria de la GR se realizó basado en el procedimiento descrito en el estuche reactivo BIOXYTECH® GR-340™ (OXIS Research, Portland, USA). La lectura se realizó durante 3 minutos en un espectrofotómetro UV-VIS Genesys 8 (SPECTRONIC UNICAM, UK). Las unidades de actividad enzimática se expresaron en mU/ml.

5. Determinación de la capacidad antioxidante total plasmática (FRAP).

Este ensayo permite determinar la habilidad del plasma de reducir a los iones férricos a ferrosos, representando el poder antioxidante.⁸ La reducción del ión férrico a ferroso a un pH bajo, da lugar a la formación del complejo Fe^{II} -Tripiridiltriazina, cromógeno azul, que se mide a 593 nm. La lectura de la absorbancia se realizó en un Lector de placas SUMA PR-521 (TECNOSUMA, Cuba). Los resultados fueron expresados en equivalentes de mM de Fe^{II} .

Análisis estadístico

Los resultados se expresaron con medidas de tendencia central (media aritmética) y de dispersión (desviación estándar) para variables cuantitativas continuas. Se aplicaron la prueba de Kolmogorov-Smirnov y la prueba de Levene para comprobar

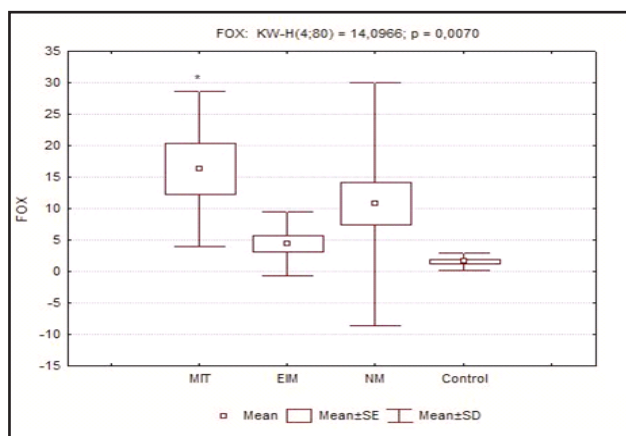
los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza. Para la validación estadística, se aplicó el test de ANOVA conjuntamente con la prueba post-hoc de comparación de Tukey, en caso de no cumplir los supuestos de las pruebas paramétricas se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis. El nivel de significación se estableció en $p=0,05$.

Resultados

Como se observa en la figura 1, entre todos los grupos de enfermedades, los pacientes con enfermedades

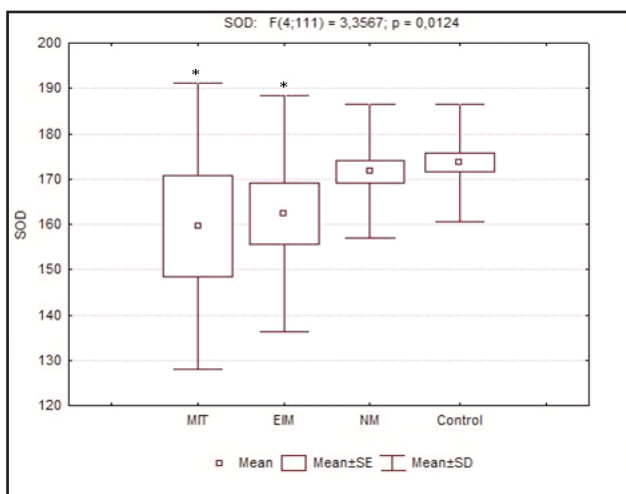
mitocondriales, son los pacientes que presentan los mayores concentraciones plasmáticas de peróxidos, en niveles muy superiores a los valores hallados para el grupo control ($p=0,004$). En relación con las actividades de las principales enzimas del sistema antioxidante endógeno, se aprecia que los pacientes en los grupos con enfermedades mitocondriales y con errores innatos del metabolismo ($p<0,05$), presentaron una disminución en la actividad de la Cu-Zn Superóxido dismutasa intraeritrocitaria (figura 2).

Figura 1. Concentraciones plasmáticas de peróxidos totales (FOX) en los tres grupos de enfermedades: MIT: Enfermedades mitocondriales, EIM: Errores innatos del metabolismo, NM: Enfermedades neuromusculares. *Los pacientes con enfermedades mitocondriales muestran las concentraciones estadísticamente superiores en comparación con la población de referencia ($p=0,004$). Los datos se muestran como media (\square), media \pm error de la media (\square), media \pm Desviación estándar (\perp).



Fuente de datos: Base de datos de la investigación. Laboratorio de Estrés Oxidativo. Centro Nacional de Genética Médica.

Figura 2. Actividad enzimática de la Cu-Zn Superóxido Dismutasa (SOD) en los 3 grupos de enfermedades: MIT: Enfermedades mitocondriales, EIM: Errores innatos del metabolismo, NM: Enfermedades neuromusculares. *Los pacientes con enfermedades mitocondriales y con errores innatos del metabolismo presentan una disminución en la actividad enzimática en comparación con los controles ($p<0,05$). Los datos se muestran como media (\square), media \pm error de la media (\square), media \pm Desviación estándar (\perp).

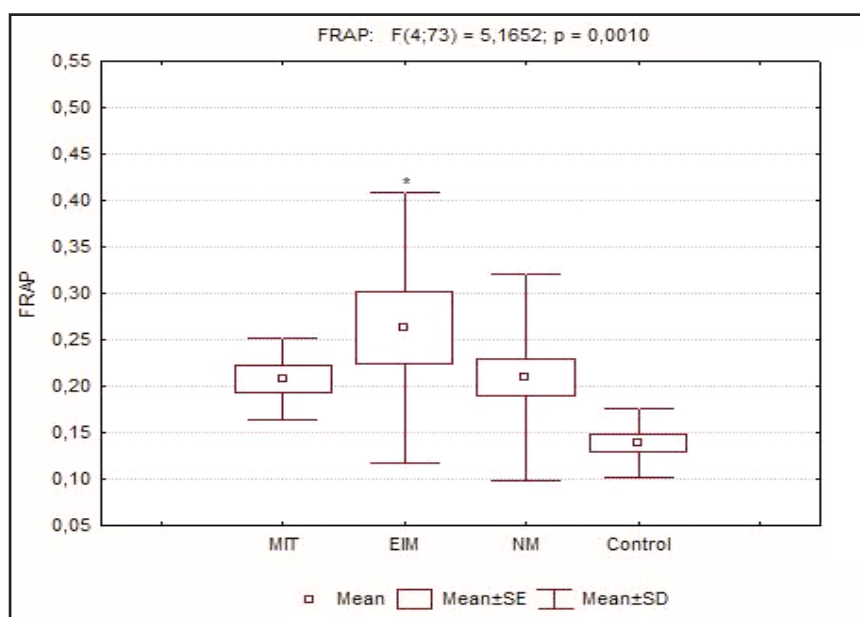


Fuente de datos: Base de datos de la investigación. Laboratorio de Estrés Oxidativo. Centro Nacional de Genética Médica.

Por otra parte, se obtuvo que, los pacientes con errores innatos del metabolismo muestran los mayores niveles de capacidad antioxidante total plasmática (FRAP) ($p=0,0288$), en comparación con los otros dos grupos de enfermedades y con los controles (Figura 3). No se

evidenciaron diferencias significativas ($p>0,05$) entre los grupos de pacientes y los controles en relación con las concentraciones plasmáticas de PAOP y las actividades del resto de las enzimas antioxidantes analizadas, CAT, c-GPx y GR.

Figura 3. Valores de Capacidad antioxidante total plasmática en los 3 grupos de enfermedades: MIT: Enfermedades mitocondriales, EIM: Errores innatos del metabolismo, NM: Enfermedades neuromusculares. *Los mayores niveles de capacidad antioxidante se observan en el grupo de pacientes con errores innatos del metabolismo en comparación con los pacientes de los otros dos grupos de enfermedades y con el grupo control. Los datos se muestran como media (\square), media \pm error de la media (\square), media \pm Desviación estándar (\perp).



Fuente de datos: Base de datos de la investigación. Laboratorio de Estrés Oxidativo. Centro Nacional de Genética Médica.

Discusión

Los resultados derivados del presente estudio sugieren la presencia de alteraciones en la homeostasis redox en relación con la enfermedad genética presente. En el grupo de pacientes con citopatías mitocondriales, se apreció el aumento a nivel plasmático de las concentraciones de peróxidos, especie reactiva del oxígeno (ERO), con alto poder como oxidante y potencialmente generadora de otras moléculas más reactivas¹¹. Considerando que las mitocondrias constituyen la fuente endógena fundamental de producción de estas especies,¹⁰ la disfunción mitocondrial presente en estos trastornos, trae como consecuencia la disminución en la producción de ATP, lo que se traduce en el incremento de los niveles de las ERO y por tanto alteraciones en la regulación redox a nivel celular.¹¹ Estos hallazgos han sido replicados en modelos experimentales representativos de los defectos mitocondriales y en reportes previos

se describen resultados similares en los pacientes con estos desórdenes, apuntando al papel que pudiera tener el incremento de las ERO en varias enfermedades mitocondriales.¹²⁻¹⁵ Por otra parte, se aprecia una disminución en la actividad de la SOD a nivel intraeritrocitario, una de las principales enzimas del sistema antioxidante endógeno. Estos dos eventos pudieran guardar relación, teniendo en cuenta que se ha descrito que la actividad a nivel eritrocitario de esta enzima, puede afectarse en presencia de altos niveles circulantes de peróxidos, uno de los inhibidores de esta enzima.¹⁶

Los pacientes con errores innatos del metabolismo (EIM) al igual que para los trastornos mitocondriales, muestran una disminución notable en la actividad de la SOD a nivel intraeritrocitario. En concordancia con estos hallazgos, se ha reportado que en varios EIM se manifiesta una disminución en las defensas antioxidantes.⁴

Los pacientes con errores innatos del metabolismo, mostraron un aumento de la capacidad antioxidante plasmática total, lo que puede resultar contradictorio, teniendo en cuenta los resultados anteriormente descritos. La capacidad antioxidante total fue medida mediante el ensayo FRAP,⁸ constituyendo el ácido úrico uno de los componentes que más aporta a los valores del potencial reductor de la muestra, cuando se emplea este método. En estudios realizados se describe que se establece una correlación positiva entre las concentraciones de ácido úrico y el aumento en los valores de capacidad antioxidante medidas por el ensayo FRAP.¹⁷ Se ha descrito que los pacientes, con algunas de las enfermedades incluidas en el grupo de pacientes con EIM, muestran un incremento significativo de los niveles de ácido úrico¹⁸, lo que pudiera ser la explicación al incremento en la capacidad antioxidante que se aprecia en los pacientes incluidos en este estudio. Por otra parte, a pesar de que el ácido úrico se encuentra catalogado como uno de los principales componentes antioxidantes a nivel plasmático, en estudios recientes se le han conferido propiedades pro-oxidantes, atendiendo a su concentración, fundamentado en la ocurrencia de eventos oxidativos a nivel vascular y por su posible participación en la disfunción endotelial y en la aterogénesis en pacientes que muestran un incremento en los niveles de este metabolito.¹⁹ Basado en estos argumentos, el aumento encontrado en la capacidad antioxidante, en estos pacientes, nos sugiere la presencia de condiciones pro-oxidantes a nivel sistémico, mediado por el incremento en los niveles del ácido úrico, más que el aumento en el poder reductor del plasma.

Los pacientes con las enfermedades neuromusculares incluidas en el estudio, principalmente del tipo de distrofia muscular de Duchenne, no mostraron alteraciones significativas en los marcadores medidos, lo cual no excluye que puedan existir otras alteraciones en las vías de señalización controladas por el estado redox en estos pacientes. Estudios recientes, en muestras de tejido muscular de pacientes con distrofia muscular de Duchenne, así como en estudios realizados en modelos animales que mimetizan esta enfermedad, han demostrado alteraciones en las vías de señalización donde participa el Factor Nuclear Kappa-B (NF- κ B), factor de transcripción que puede activarse como respuesta a cambios en el estado redox celular.²⁰⁻²²

Por último, de acuerdo a los resultados obtenidos se observa que cada grupo de enfermedad presenta una alteración distintiva en los marcadores estudiados. Esto sugiere que estas enfermedades pueden tener en común alteraciones en el estado redox; apreciándose condiciones oxidativas sumado a cambios en los niveles de defensa antioxidante, aspectos que pueden contribuir a la fisiopatología de estas afecciones. Sin embargo, se considera que serán necesarios otros estudios donde se evalúen otros marcadores de estrés oxidativo, en un mayor número de pacientes, teniendo en cuenta la heterogeneidad de las enfermedades incluidas en cada grupo.

Los resultados derivados de este estudio podrían ser el sustento para investigaciones posteriores, en los que se puede abordar la aplicación de estrategias terapéuticas basadas en la utilización de antioxidantes en estos pacientes.

Referencias bibliográficas

1. Dröge W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiol Rev.* 2002; 82: 47–95.
2. Bolisetty S, Jaimes EA. Mitochondria and Reactive Oxygen Species: Physiology and Pathophysiology. *Int J Mol Sci.* 2013; 14: 6306-44.
3. Jones DP. Redefining Oxidative Stress. *Antioxidants & Redox Signaling.* 2006; 8: 1865-1879.
4. Gil del Valle L. Oxidative stress in aging: Theoretical outcomes and clinical evidences in humans. *Biomed. Pharmacother.* 2010.
5. Decuypere J, Monaco G, MissiaL, De Smedt H, Parys J, Bultynck G. IP(3) Receptors, Mitochondria, and Ca Signaling: Implications for Aging. *J. Aging Res.* 2011; 2011: 920178.
6. Seo A, Joseph A, Dutta D, Hwang J, Aris J, Leeuwenburgh C. New insights into the role of mitochondria in aging: mitochondrial dynamics and more. *J. Cell. Sci.* 2010; 123: 2533-2542.
7. Jimenez-Del-Rio M, Velez-Pardo C. The Bad, the Good, and the Ugly about Oxidative Stress. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2012; 2012: 1-13.
8. Harma M, Harma M, Erel O. Increased oxidative stress in patients with hydatidiform mole. *Swiss Med Wkly* 2003; 133: 563-6.
9. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Nguyen Khoa T, Capeillère-Blandin C, Nguyen AT, Canteloup S, et al. Advanced Oxidation

- Protein Products as Novel Mediators of Inflammation and Monocyte Activation in Chronic Renal Failure. *J Immunol* 1998; 161: 2524-32.
10. Martínez-Rubio A, Riverón-Forment G, Pupo-Balboa J, Lantigua-Cruz A, Martínez-Bonne O. Evaluación de marcadores de estrés oxidativo en pacientes con Síndrome Down en edad pediátrica. *Rev Cubana Genet Comunit* 2010; 4(1): 23-8.
 11. Bolisetty S, Jaimes EA. Mitochondria and Reactive Oxygen Species: Physiology and Pathophysiology. *Int J Mol Sci.* 2013; 14: 6306-6344.
 12. Vattemi G, Mechref Y, Marini M, Tonin P, Minuz P, Grigoli L, *et al.* Increased Protein Nitration in Mitochondrial Diseases: Evidence for Vessel Wall Involvement. *Molecular & Cellular Proteomics.* 2011; 10.
 13. Federico A, Cardaioli E, Da Pozzo P, Formichi P, Nicola Gallus G, Radi E. Mitochondria, oxidative stress and neurodegeneration. *Journal of the Neurological Sciences.* 2012
 14. Minuz P, Fava C, Vattemi G, Arcaro G, Riccadonna M, Tonin P, *et al.* Endothelial dysfunction and increased oxidative stress in mitochondrial diseases. *Clin Sci (Lond).* 2012; 122(6): 289-97.
 15. Wallace DC, Fan WW. The pathophysiology of mitochondrial disease as modeled in the mouse. *Genes & Dev.* 2009; 23: 1714-36.
 16. Nikolić-Kokić A, Blagojević D, Spasić MB. Complexity of free radical metabolism in human erythrocytes. *J Med Biochem.* 2010; 29: 189-95.
 17. Contreras-Roura J. Errores innatos del metabolismo de las purinas y otras enfermedades relacionadas. *Rev Cubana Pediatr* 2012; 84(2).
 18. Reddy PE, Manohar SM, Reddy SV, Bitla AR, Vishnubhotla S, Lakshmi Narasimha SR. Ferric Reducing Ability of Plasma and Lipid Peroxidation in Hemodialysis Patients: Intradialytic Changes. *Int J Nephrol Urol,* 2010; 2 (3): 414- 21.
 19. Pasalic D, Marinkovic N, Feher-Turkovic L. Uric acid as one of the important factors in multifactorial disorders--facts and controversies. *Biochem Med (Zagreb).* 2012; 22(1): 63-75.
 20. Tidball J, Wehling-Henricks M. The role of free radicals in the pathophysiology of muscular dystrophy. *J Appl Physiol* 2007; 102: 1677-1686.
 21. Messina S, Bitto A, Aguenouz M, Mazzeo A, Migliorato A, Polito F, *et al.* Flavocoxid counteracts muscle necrosis and improves functional properties in mdx mice: a comparison study with methylprednisolone. *Exp Neurol.* 2009 Dec; 220(2): 349-58.
 22. Messina S, Vita GL, Aguenouz M, Sframeli M, Romeo S, Rodolico C, *et al.* Activation of NF-kB pathway in Duchenne muscular dystrophy: relation to age. *Acta Myol* 2011 Jun; 30(1): 16-23.