



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS
FACULTAD DE MEDICINA**

**MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN PREESCOLARES DE
3 A 5 AÑOS CON SOBREPESO Y OBESIDAD
EN EL HOSPITAL MATERNO PEDIATRICO XOCHIMILCO**

TESIS QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS BIOMEDICAS

PRESENTA:

M.C. FRANCISCO ENRIQUE CARMONA MONTESINOS

DIRECTORA DE LA TESIS:

DRA. SELVA LUCIA RIVAS ARANCIBIA
FACULTAD DE MEDICINA

COMITÉ TUTORAL:

DRA. MARIA DE LA LUZ NAVARRO ANGULO
FACULTAD DE MEDICINA

DRA. PERLA D. MALDONADO JIMENEZ
INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGIA Y NEUROCIRUGÍA

CIUDAD DE MÉXICO A DE SEPTIEMBRE DEL 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

La presente tesis de Doctorado se realizó en el Laboratorio de Estrés Oxidativo y Plasticidad Cerebral del Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la UNAM, así como en el Hospital Materno Pediátrico Xochimilco de la Secretaría de Salud de la Ciudad de México, bajo la dirección de la
Dra. Selva Lucia Rivas Arancibia.

AGRADECIMIENTOS

- Al Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACYT) por la beca de estudios de Doctorado (No. 548.639).
- Al programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Al Dr. José Armando Ahued Ortega Secretario de Salud de la Ciudad de México, por el apoyo otorgado para la realización de este trabajo.
- A las madres y padres de los niños que participaron en el estudio, ya que sin su colaboración este estudio no habría sido posible.
- A mi tutora la Dra. Selva Rivas, por darme la oportunidad de adentrarme en el mundo de la ciencia, pero sobre todo por las enseñanzas y la paciencia que me tubo durante mi estancia como alumno de Doctorado.
- A mi Comité Tutorial integrado por la Dra. Luz Navarro y la Dra. Perla Madonado, por el apoyo durante mi estancia como alumno de Doctorado.
- A la Dra. Ana Erika Rodríguez Martínez, por su apoyo y consejos los cuales me hicieron una mejor persona e investigador.
- A mis compañeros del laboratorio de Estrés Oxidativo y Plasticidad Cerebral; los de ayer y los hoy ¡ Gracias ¡
- A mi padre el Lic. Francisco Carmona García, por orientarme, educarme ya que todas tus enseñanzas y regaños me han hecho un mejor ser humano.
- A mi madre María Eugenia Montesinos Espinosa, por enseñarme a ser perseverante y no rendirme ante las adversidades que se presentan en la vida. Gracias Mamá.
- A Eduardo Yael A. Carmona, por dejarme ser tu ejemplo de vida.
- Al C.D. Víctor Manuel Cortés y a Norma Ugalde por apoyar este sueño y hacerme parte de su familia.
- Gracias a todos los que voluntaria e involuntariamente apoyaron y enriquecieron este trabajo de investigación, el cual ha llegado a su fin. Gracias Totales.

- Finalmente hago un agradecimiento muy especial a mi esposa la Dra. Angélica Cortes por la paciencia, los buenos y malos momentos que pasamos durante estos años de mi formación académica, pero sobre todo por la pequeña gran familia que formamos al lado de nuestra hija Alejandra Estefanía.

Dedicatoria

... A mi esposa Angélica y a mi hija Alejandra Estefanía,
son mi aliento a seguir hacia el camino del éxito, las amo

INDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	3
LISTA DE ABREVIATURAS	5
INTRODUCCIÓN	8
Estrés Oxidativo, una visión general	10
Radicales Libres	10
Especies Reactivas de Oxígeno y Nitrógeno	10
Antioxidantes	11
Glutación Peroxidasa	12
Tiorredoxina	12
Catalasa	12
Superóxido dismutasa	12
Hemo-oxigenasa 1	13
Sistema Glutación	13
Balance de Óxido-Reducción	14
Especies Reactivas de Oxígeno como señalizadores	17
Estrés Oxidativo	18
Daño oxidante a proteínas	19
Daño oxidante a carbohidratos	20
Daño oxidante a lípidos	21
Daño oxidante a ácidos nucleicos	22
Daño mitocondrial	23
Inflamación	24
Proteína C reactiva	27
Obesidad Infantil	28

Definición	28
Epidemiología	29
Situación de la obesidad en la CDMX	30
Fisiopatología	31
Rol de las Especies reactivas de Oxígeno en la obesidad	32
Rol de la Hemo-oxigenasa-1 en la obesidad	35
Diagnostico	37
Antropometría	37
Peso	37
Talla	37
Índice de Masa Corporal	38
Puntuaciones Z	38
Sistema centiles	38
JUSTIFICACIÓN	39
HIPÓTESIS	39
OBJETIVOS	40
Objetivo General	40
Objetivos específicos	40
Objetivo 1	40
Objetivo 2	40
Objetivo 3	40
Objetivo 4	41
Objetivo 5	41
MATERIAL Y MÉTODOS	42
Selección de los participantes	42
Determinación del estado nutricional	43
Determinación y análisis de laboratorio	43
Peroxidación de lípidos	44

Proteínas oxidadas	44
Glutación total, oxidado y reducido	45
Lipoproteínas de baja densidad oxidadas	46
Concentración de Glutación Peroxidasa 3	47
Actividad enzimática de Glutación Peroxidasa 3	47
Concentración de Superóxido Dismutasa Cu/Zn	48
Actividad enzimática de Superóxido Dismutasa Cu/Zn	49
Concentración de Catalasa	49
Actividad enzimática de Catalasa	50
Concentración de Hemo-oxigenasa 1	50
Concentración de Insulina	51
Modelo homeostático de evaluación para resistencia a la insulina	52
Análisis estadístico	52
RESULTADOS	53
DISCUSIÓN	65
CONCLUSIONES	72
BIBLIOGRAFIA	73
ANEXOS	89

RESUMEN

La obesidad en pediatría, representan un reto para la salud pública, debido al rápido incremento en su prevalencia y asociación con complicaciones, las cuales pueden desarrollarse en otras etapas de crecimiento del niño. La edad de 3 a 5 años es un punto en el crecimiento y desarrollo del infante durante el cual, se llevará la programación y distribución de tejido adiposo que se tendrá a lo largo de la vida. Si esta programación se modifica debido al rápido incremento de peso corporal y la célula adiposa se hipertrofia se producirá un aumento en la secreción de citocinas y especies reactivas, lo que llevará a un estado de estrés oxidativo, así como a una inflamación crónica subclínica, mecanismos fisiopatológicos involucrados en el desarrollo de enfermedades crónico degenerativas. El objetivo del trabajo fue identificar las alteraciones en los marcadores de estrés oxidativo, los sistemas antioxidantes, el perfil de lípidos, la proteína C reactiva, la insulina, así como en el cálculo por métodos indirectos para resistencia a la insulina en paciente pediátricos, en edad preescolar de 3 a 5 años con obesidad en el Hospital Materno Pediátrico Xochimilco.

Para dicho fin, cien niños de 3 a 5 años de edad fueron seleccionados y divididos en dos grupos (*n:50 por grupo*); un grupo de niños eutróficos (percentil < 84) y un grupo de niños con obesidad (percentil > 95); se realizó una evaluación antropométrica y cuantificación en plasma de glucosa, colesterol, triglicéridos, lipoproteínas de alta densidad, lipoproteínas de baja densidad, proteína C reactiva y ácido úrico los cuales fueron comparados entre los grupos de estudio. También se determinaron marcadores de estrés oxidativo como: lípidos peroxidados, proteínas oxidadas, glutatión reducido, glutatión oxidado y lipoproteínas de baja densidad oxidadas; así como las concentraciones séricas de los antioxidantes: glutatión total, glutatión peroxidasa 3, superóxido dismutasa Cu/Zn, catalasa y Hemo-oxigenasa-1; así como las actividades enzimáticas de: glutatión peroxidasa 3, superóxido dismutasa Cu/Zn y catalasa. Finalmente se evaluó en suero las modificaciones en la insulina de niños de 3 a 5 años con obesidad y fue comparado con niños con peso normal y se calculó el índice HOMA-IR, HOMA-%B, HOMA-%S,

índice TG/HDL, índice T/G, e índice QUICKI, los cuales son métodos indirectos para diagnóstico de resistencia a la insulina.

Los datos obtenidos muestran un aumento significativo en los niños que presentan obesidad en relación a la talla ($p < 0.047$), peso ($p < 0,0001$), índice de masa corporal ($p < 0.0001$), percentil IMC/Edad ($p < 0.0001$), z-score/IMC ($p < 0.0001$), glucosa ($p < 0.0001$), triglicéridos ($p < 0.15$), proteína C reactiva ultrasensible, así como una disminución en los niveles de lipoproteínas de alta densidad ($p < 0.039$) al ser comparados con los niños de grupo control. Además, los resultados, demuestran que los niños obesos presentan un aumento estadísticamente significativo en las concentraciones séricas de peroxidación de lípidos ($p < 0.0001$), proteínas oxidadas ($p < 0.0001$), glutatión oxidado ($p < 0.0006$) y lipoproteínas de baja densidad oxidadas ($p < 0.02$) así como una disminución sobre el glutatión reducido ($p < 0.0003$) al ser comparados con niños del grupo control. Por otra parte, los antioxidantes muestran un aumento significativo en los niños que presentan obesidad tanto en el glutatión total como en la hemo-oxigenasa 1 ($p < 0.0001$) además de una disminución en la actividad enzimática de glutatión peroxidasa 3 ($p < 0.002$) y de la concentración sérica de catalasa ($p < 0.0001$). El cálculo por métodos indirectos para diagnosticar resistencia a la insulina indica que los niños obesos presentan un incremento estadísticamente significativo al ser comparados con los niños de grupo control sobre la insulina sérica ($p < 0.0001$), HOMA-IR ($p < 0.0014$), HOMA-%B ($p < 0.0001$), índice TG/HDL ($p < 0.0001$), índice TG/G ($p < 0.042$) e índice de QUICKI ($p < 0.0001$).

Con los resultados obtenidos se puede concluir, que los niños preescolares obesos cursan con un estado de estrés oxidativo crónico, un proceso inflamatorio, así como un estado incipiente de resistencia a la insulina, ya que se observa un incremento en los marcadores de estrés oxidativo y disminución de los sistemas antioxidantes, incremento de la proteína C reactiva y alteraciones sobre los métodos indirectos para el diagnóstico de resistencia a la insulina.

ABSTRACT

In pediatrics, obesity represents a challenge to public health due to the quick growth of its prevalence and the association of further complications that can arise during the child's different stages of development. Ages 3 to 5 are the stage of development during which programming and distribution of the adipose tissue that the child will have through life take place. If this programming is modified as a consequence of the fast increase of body weight and the adipose cell hypertrophy, an increase in the secretion of cytokines and reactive species takes place, leading to a state of oxidative stress as well as subclinical chronic inflammation and pathophysiological mechanisms involved in the development of chronic degenerative diseases. The aim of this work was to identify the disturbances in the oxidative stress markers, the antioxidant systems, the lipid profile, C-reactive protein, and insulin, as well as in the calculation of insulin resistance using indirect methods in pediatric obese patients of preschool age (ages 3 to 5) at the Xochimilco Maternal Pediatric Hospital (Hospital Materno Pediátrico Xochimilco).

To do so, one hundred children between ages 3 and 5 were selected and divided into two groups (n = 50 per group): one group of eutrophic children (< 84th percentile) and one group of children with obesity (> 95th percentile). We conducted an anthropometric evaluation and a quantification of plasma in glucose, cholesterol, triglycerides, high-density lipoproteins, low-density lipoproteins, C-reactive protein, and uric acid. All of these were compared between the study groups. In addition, we determined oxidative stress markers: peroxidized lipids, oxidized proteins, reduced glutathione, oxidized glutathione and oxidized low-density lipoproteins. We also determined the serum concentrations of these antioxidants: total glutathione, glutathione peroxidase 3, Cu/Zn superoxide dismutase, catalase, and heme oxygenase-1. Additionally, we determined the enzymatic activities of: peroxidase 3, Cu/Zn superoxide dismutase, and catalase. Finally, the modifications to insulin in serum in obese children aged between 3 and 5 were evaluated. We compared the results with those from children with normal weight and calculated HOMA-IR, HOMA-

%B, HOMA-%S and TG/HDL, T/G and QUICKI indices, which are indirect methods to diagnose insulin resistance.

The data obtained from the obese children show a significant increase in terms of size ($p < 0.047$), weight ($p < 0.0001$), body mass index ($p < 0.0001$), BMI/Age percentile ($p < 0.0001$), z-score/BMI ($p < 0.0001$), glucose ($p < 0.0001$), triglycerides ($p < 0.15$), ultra-sensitive C-reactive protein, as well as a decrease in the high-density lipoproteins levels ($p < 0.039$) when compared to the levels of the children from the control group. Additionally, the results demonstrate that obese children show a statistically considerable increase in the serum concentrations of lipid peroxidation ($p < 0.0001$), oxidized proteins ($p < 0.0001$), oxidized glutathione ($p < 0.0006$) and oxidized low-density lipoproteins ($p < 0.02$), as well as a decrease of the reduced glutathione ($p < 0.0003$) when compared with the children from the control group. In contrast, obese children show a significant increase in antioxidants as total glutathione and heme oxygenase ($p < 0.0001$), as well as a decrease of the enzymatic activity of glutathione peroxidase 3 ($p < 0.002$) and the serum concentration of catalase ($p < 0.0001$). The calculation to diagnose insulin resistance using indirect methods indicates that obese children present a statistically considerable increase when compared to the children from the control group in terms of: serum insulin ($p < 0.0001$), HOMA-IR ($p < 0.0014$), HOMA-%B ($p < 0.0001$), TG/HDL index ($p < 0.0001$), TG/G index ($p < 0.042$), and QUICKI index ($p < 0.0001$). With the results obtained, we can conclude that the obese preschool children have a chronic oxidative stress state and show an inflammatory process as well as an early state of insulin resistance. This conclusion is based on the fact that we observed an increase in the oxidative stress markers, a decrease in the antioxidant systems, an increase in C-reactive protein, and disturbances on the indirect methods to diagnose insulin resistance.

LISTA DE ABREVIATURAS

OMS	Organización Mundial de la Salud
IMC	Índice de masa corporal
CDC	Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos
RL	Radical libre
e^-	Electrón
ROS	Especies Reactivas de Oxígeno
O_2^-	Anión superóxido
$\bullet OH$	Radical hidroxilo
H_2O_2	Peróxido de hidrogeno
O_3	Ozono
ClOH	Ácido hipocloroso
$NO\bullet$	Óxido nítrico
O_2	Oxigeno
SOD	Superóxido Dismutasa
GPx	Enzima glutatión peroxidasa
Se	Selenio
TRX-1	Tiorredoxina 1
Cat	Catalasa
Mn	Manganeso
Cu/Zn	cobre-zing
HO-1	Hemo-oxigenasa 1
NADPH	nicotinamida adenin dinucleotico reducida
CO	Monóxido de carbono
Fe^{2+}	Ion ferroso
ATP	Adenosin trifosfato

H ⁺	Hidrogeno
ADP	Adenosin difosfato
H ₂ O	Agua
NOX	NADPH oxidasa
LPS	Lipopolisácaridos
Fe ⁺³	Ion férrico
AGE	Productos de glicación avanzada
MDA	Malondialdehído
HNE	4-hidroxi-2-nonenal
HHE	4-hidroxi-2-hexenal
TBARS	Sustancia reactiva al ácido tiobarbiturico
ADN	Ácido dexorribonucleico
Ca ⁺	Calcio
NLRs	Receptor del tipo Nod-Like del subtipo P3
NLRP3	Inflamosoma
NAD ⁺	Dinucleótido de adenina nicotinamida
PCR	Proteína C reactiva
IL-1B	Interleucina-1B
IL-6	Interleucina-6
TLRs	Receptores transmembranales tipo toll
PAMPs	Patrones moleculares asociados a patógeno
IRAK	Proteínas cinasa asociada al receptor IL-1
TRAF-6	Factor asociado al receptor TNF
TAK-1	Cina activada de TGF-β
NF-kB	Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas
K	Potasio
MCP-1	Proteína quimioatrayente de macrófagos
TNF-α	Factor de necrosis tumoral-alfa

ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
DHAP	Aldosa B-dihidroxyetona fosfato
PPAR- γ	Receptor proliferador de peroxisoma gamma
GM-CSF	Factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos
JNK	Quinasas c-Jun N-terminal
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México
CDMX	Ciudad de México
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
LPO	Lípidos peroxidados
μ L	Microlitro
DNPH	2,4-dinitrofenilhidrazina
HCl	Ácido clorhídrico
TCA	Ácido tricloacético
GSH	Glutación total
GSSG	Glutación oxidado
LDL-ox	Lipoproteínas de baja densidad oxidadas
ELISA	Ensayo de inmuno-absorción ligado a enzimas
PBS	Solución salina amortiguada por fosfatos
TMB	3,3', 5,5'-tetrametilbencidina
GR	Glutación reductasa
Na_2CO_3	Carbonato de Calcio
HOMA-IR	Índice de modelo homeostático de evaluación para resistencia a la insulina
HOMA-%B	Índice de modelo homeostático de evaluación estimaciones de la función de las células beta de estado estacionario
HOMA-%S	Índice de modelo homeostático de evaluación estimaciones de la sensibilidad a la insulina
PI3K	Vía fosfo-inositol 3-quinasas

INTRODUCCIÓN

La obesidad es el problema de salud que se presenta con mayor frecuencia en la población mundial, de acuerdo con las estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la cual en el año 2014 reporta una prevalencia de alrededor de 600 millones de pacientes mayores de 18 años que padecen obesidad y cerca de 41 millones de niños menores de cinco años que ya desarrollan sobrepeso y/u obesidad (OMS-Obesidad y sobrepeso 2016).

La OMS define a la obesidad como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para para la salud (OMS-Obesidad y sobrepeso 2016). Sin embargo, para poder determinar la severidad de esta acumulación de grasa, se utiliza el índice de masa corporal (IMC) el cual se calcula multiplicando el peso por la talla al cuadrado y la circunferencia abdominal. En adultos se define sobrepeso cuando se presenta un IMC de 25.0 a 29.9 kg/m² y obesidad con un IMC es de 30 kg/m² o mayor. En la edad pediátrica además de considerar el IMC en el diagnóstico de sobrepeso y obesidad se debe también de tomar en cuenta al sexo y la edad de niño, ya que el crecimiento en cualquier etapa pediátrica es dinámico; con base en esta situación fisiológica de crecimiento y desarrollo, la OMS en conjunto con el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos (CDC), desarrollaron tablas percentilares de IMC para la edad en las cuales se calcularon puntos de cohorte para cada población del mundo y así llegaron a la conclusión de que niños que se encuentren entre el percentil 84 al 94 son clasificados con sobrepeso y los que estén por encima de la percentil 95 serán clasificados en obesidad (Kaufer-Horwitz et al., 2008).

Por otra parte, el perímetro de la cintura, también aporta información importante en la clínica de la obesidad, ya que durante este padecimiento existe un aumento de la grasa visceral la cual rodea los órganos abdominales.

El sobrepeso y obesidad en cualquier etapa de la vida, está relacionado con un desbalance entre ingesta y gasto energético, el cual produce una acumulación excesiva de grasa, dando como resultado hipertrofia adiposa; este proceso de crecimiento desmedido del adipocito es el punto fundamental para el desarrollo de las complicaciones asociadas a la obesidad, ya que el tejido adiposo, en especial el visceral es considerado un órgano endocrino altamente activo, el cual secreta una gran cantidad de adipocinas, citocinas y especies reactivas lo que lleva a un estado de estrés oxidativo y se mantiene un estado de inflamación crónica subclínica de bajo grado, la cual se encuentra presente en la obesidad; las especies reactivas y las citocinas pueden condicionar el desarrollo de complicaciones como: resistencia a la insulina, diabetes mellitus, dislipidemia mixta, enfermedad cardiovascular y síndrome metabólico (Marseglia et al., 2014).

Existe suficiente evidencia científica de que en la obesidad se presenta un estado de estrés oxidativo, pero aún no está claro cuáles son los mecanismos moleculares que contribuyen a la fisiopatología de la obesidad. Sin embargo, durante el desarrollo de esta, el estrés oxidativo y la respuesta inflamatoria sistémica causan que los fibroblastos que normalmente dan origen a los pre-adipocitos y a adipocitos maduros, se conviertan en macrófagos, debido a que se modifican su señalización. Esto lleva a una alteración en el funcionamiento no sólo del tejido adiposo, sino que también de los órganos como el hígado y el páncreas entre otros (González-Chávez et al., 2011).

ESTRÉS OXIDATIVO, UNA VISIÓN GENERAL

Radical Libre

El concepto de radical libre (RL) se comienza a dilucidar a finales del siglo XIX, gracias a los experimentos realizados por el químico ruso Moses Gomberg (1910), sin embargo, tuvieron que pasar 40 años para que en 1956 Harman, definiera el concepto de RL, el cual lo define como un átomo o grupo de átomos que contiene un electrón (e^-) desapareado y que son químicamente inestables (Harman 1956).

Especie Reactiva de Oxígeno y Nitrógeno

Las Especies Reactivas de Oxígeno (ROS), se forman en los sistemas biológicos tanto por los RL como por los metabolitos de estos y son: anión superóxido (O_2^-), radical hidroxilo ($\bullet OH$), así como en moléculas no radicales como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el oxígeno molecular o singlete, el ozono (O_3) y el ácido hipocloroso (ClOH) (Konisberg et al., 2008). Es importante considerar que la capacidad oxidante de cada radical o ROS, está determinada por: su reactividad, especificidad, selectividad y difusibilidad (citado en Konisberg et al., 2008; Maldonado et al., 2010).

Las especies reactivas de nitrógeno se forman a partir del radical óxido nítrico ($NO\bullet$) y los metabolitos de este, como los nitritos, nitratos y peroxinitritos (Gutteridge et al., 1989).

Antioxidante

El concepto de antioxidante fue utilizado por primera vez a finales del siglo XIX para definir a un producto químico capaz de contrarrestar el daño causado por el Oxígeno (O_2). Sin embargo, fue hasta 1969 con el descubrimiento de la Superóxido Dismutasa (SOD), que se comienza a aceptar que el O_2 es tóxico para los sistemas biológicos (citado en Konisberg et al., 2008).

Los antioxidantes son moléculas encargadas de mantener el balance de óxido reducción, ya que son capaces de contrarrestar a los RL y las ROS. Estos antioxidantes son clasificados en endógenos o exógenos, cabe mencionar que los antioxidantes endógenos se producen en el organismo y los exógenos son aportados por la dieta. Por otra parte, también dependiendo de su estructura química los antioxidantes se pueden dividir en enzimáticos o no enzimáticos (citado en Valko et al., 2007). (Figura 1)

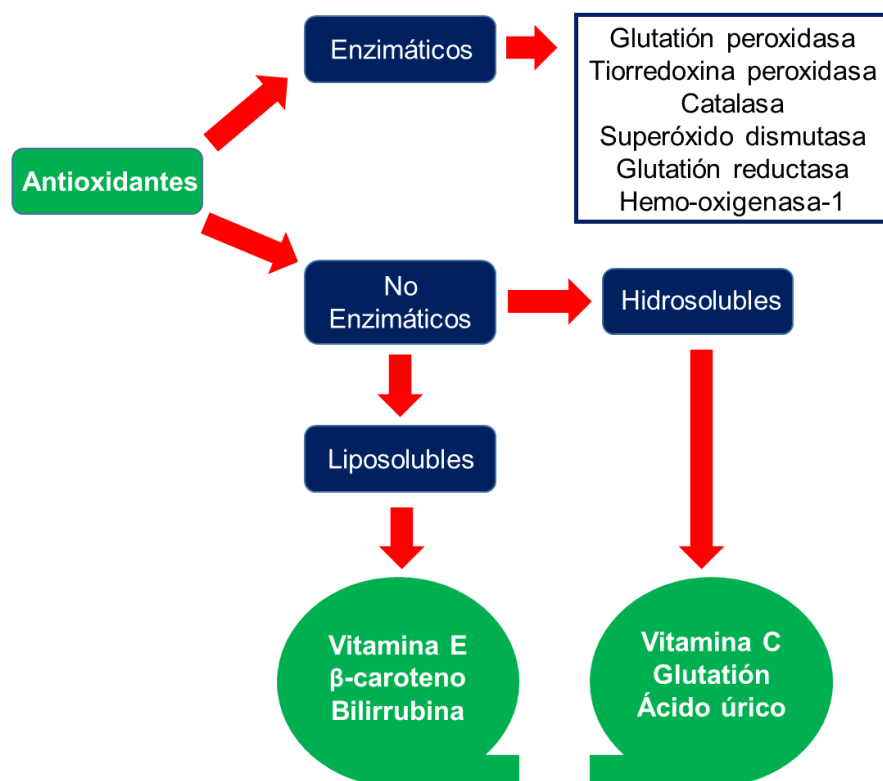


Figura 1. Clasificación de sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos.

Glutación Peroxidasa

La enzima glutación peroxidasa (GPx), es una proteína que tiene como función el degradar al H_2O_2 en O_2 y H_2O , utilizando el glutación reducido como agente reductor, y al Selenio (Se) como co-factor (citado en Gómez et al., 2006; Valko et al., 2007).

En los humanos se encuentran descrita la presencia de siete isoformas de las cuales la GPx3 y la GPx7 se expresan en el adipocito. La GPx7 se ha relacionado como sensor de activación de los sistemas antioxidantes por mecanismo no descritos aún (Le Lay et al., 2014).

Tioredoxina

Es una enzima con actividad de óxido-reductasa, presenta un mecanismo similar al del sistema glutación. En el humano se encuentra descrito la presencia de tres variantes (1,2,3) de las cuales solo la tioredoxina 1 (TRX-1) se ha implicado en el daño endotelial (citado en Valko et al., 2007).

Catalasa

La Catalasa (Cat) es un antioxidante enzimático que se ha descrito como una hemoenzima tetramérica secretada en los peroxisomas y que tiene como función la degradación del H_2O_2 en O_2 y H_2O (Fransen et al., 2012).

Superóxido Dismutasa

La SOD es una enzima antioxidante, la cual tiene como función primordial, eliminar al O_2^- dismutandolo en H_2O_2 . Está presente en tres isoformas diferentes: SOD1 es un homodímero localizado en el citosol, la SOD2 o manganeso (Mn) es un tetrámero localizado en la mitocondria y su nombre se debe a que presenta ligandos

de manganeso en sus cadenas; y por último la SOD Cu/Zn (cobre-zinc) o SOD3 la cual es un tetrámero, que se encuentra exclusivamente en el espacio extracelular (citado en Rivas-Arancibia et al., 2011).

Hemo-oxigenasa- 1

La hemo-oxigenasa 1 (HO-1) es una proteína de choque térmico transmembranal, también llamada HSP32, la cual presenta una capacidad antioxidante, debido a que está relacionada con la reducción del catabolismo oxidativo del grupo heme, dicha reducción se lleva a cabo, por la asociación entre el citocromo p-450 reductasa, nicotinamida adenin dinucleotico reducida (NADPH) y el O², los cuales catalizara al heme produciendo cantidades iguales de monóxido de carbono (CO), ion ferroso (Fe²⁺) y biliverdina, la que se convertirá en bilirrubina (Tu et al., 2014).

Sistema Glutación

Dentro de los sistemas antioxidantes no enzimáticos, y que no son suministrado en la dieta diaria, se encuentra el glutatión, el cual es un tripéptido formado por glicina, cisteína y glutamato. Su actividad antioxidante se debe a la presencia de un grupo tiol en la cisteína. Por otro lado, se ha descrito dentro de las funciones del sistema glutatión es la formación activada de los antioxidantes no enzimáticos, como la vitamina C y E; y también actúa sobre la reparación del DNA por daño oxidativo (Masella et al., 2005).

Balance de Oxido-Reducción

La homeostasis redox se encuentra presente en individuos sanos. Para lograr mantener un equilibrio de óxido-reducción en el organismo los pro-oxidantes los cuales son generados por el metabolismo de O_2 , son contrarrestados por los sistemas antioxidantes (citado en Dorado et al., 2003).

La mitocondria es el orgánulo celular que forma la mayor cantidad de ROS, esto se debe a que el O_2 que respiramos, es el aceptor final en la respiración mitocondrial (Sharma K. 2016). Por otro lado, también en este orgánulo se genera el 95% de la energía, ya que en este sitio se lleva a cabo la fosforilación oxidativa, proceso en donde los e^- pasan a través de cadena de transporte de electrones; los cuales provienen de la NADPH que es producido en el ciclo de Krebs durante la oxidación de los nutrientes como son los carbohidratos, las grasas y las proteínas para la posterior producción de adenosin trifosfato (ATP) (citado en Konisberg et al., 2008).

Por otro lado, la cadena de transporte de electrones está conformada por cuatro complejos enzimáticos multiprotéicos, los cuales se encuentran en la membrana interna mitocondrial (citado en Camps et al., 2009; Konisberg et al., 2008).

Uno de los principales sitios en donde se producen ROS en la mitocondria es el complejo I, también es llamado NADPH deshidrogenasa, el cual se encuentra compuesto por 46 subunidades. Se han reportado dentro de sus funciones la de catalizar la transferencia de e^- desde la matriz mitocondrial hasta el complejo III; esta transferencia está dada por el transportador ubiquinona ya que el e^- está acoplado a la translocación del hidrogeno (H^+); contribuyendo así a la generación de la ATP sintasa y a la posterior síntesis de ATP (citado en Camps et al., 2009; Konisberg et al., 2008). Sin embargo, en ausencia de adenosin difosfato (ADP), la ATP sintasa cesa la síntesis de ATP provocando que el flujo de e^- sea más lento lo

que dará como consecuencia que la cadena respiratoria se reduzca y dé como resultado la formación de O_2^- (citado en Rivas-Arancibia et al., 20011; Konisberg et al., 2008).

Además de lo anterior, también hay que considerar que el O_2 es un gas que tiene la capacidad de difundirse libremente por las membranas; por lo que al estar alrededor de la cadena respiratoria en su forma de O_2 molecular, va a favorecer la fuga de e^- produciéndose O_2^- (citado en Konisberg et al., 2008).

Para lograr un balance de óxido-reducción la mitocondria activa a enzimas antioxidantes como la SOD 1, la cual dismuta al O_2^- en H_2O_2 , lo que estimula a la GPx para convertir el H_2O_2 en agua (H_2O) y O_2 para mantener un equilibrio redox (*Figura 2*). Pero si se incrementa la producción de ROS y los antioxidantes se ven rebasados, se aumenta la producción de H_2O_2 y por intermedio de la reacción de Fenton se obtendrá $\bullet OH$. Dicho evento podrá generar un círculo vicioso, debido a que se aumentará la fuga de e^- , lo que conllevará a mayor producción de ROS, induciendo daño a la cadena respiratoria promoviendo así el desequilibrio energético de la célula (citado en Konisberg et al., 2008; Maldonado et al., 2010). Este desequilibrio va estar determinado por el balance entre la velocidad de producción de las ROS, la capacidad de la célula por eliminar estos compuestos, y por las concentraciones de antioxidantes; pero si la producción de ROS continua, se vuelve crónica y se presenta una pobre respuesta antioxidante, puede causar un daño irreversible a la célula y consecuentemente al sistema biológico completo (citado en Dorado et al., 2003).

Otro mecanismo que puede producir ROS es la actividad de las células del sistema inmune debido a que los fagocitos, las células polimorfonucleares y los macrófagos utilizan un alto consumo de O_2 y liberan gran cantidad de ROS cuando se encuentran frente a un agente infeccioso a dicho fenómeno se le llama "*estallido respiratorio*". Este proceso se lleva a cabo, porque existen enzimas formadoras de ROS llamadas NADPH oxidasa (NOX), estas se encuentran localizadas en la

membrana plasmática del fagocito y pueden ser activadas por múltiples factores y partículas como el diacilglicerol, los lipopolisácaridos (LPS), la angiotensina II entre muchos otros. Sin embargo, la función principal independientemente de cuál es el mecanismo activador es la producción de ROS ante la amenaza de un patógeno (citado en Camps et al., 2009; Konisberg et al., 2008).

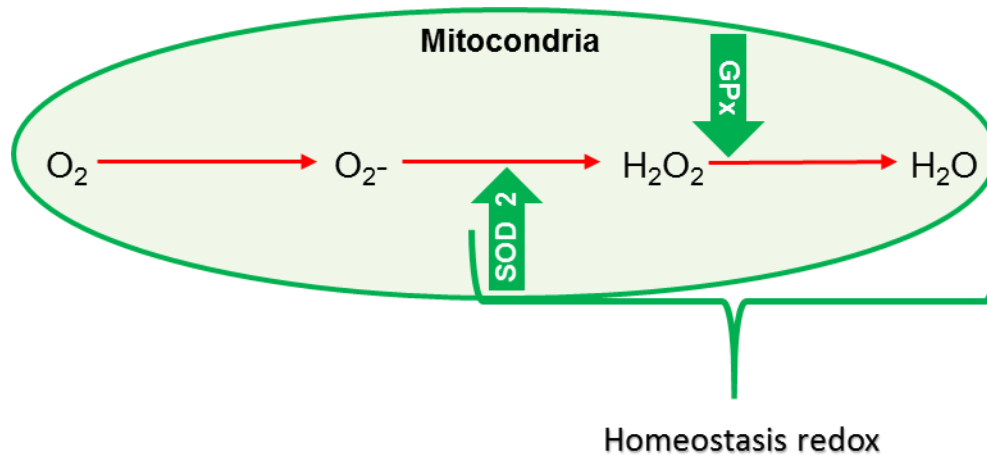


Figura 2. Balance de óxido-reducción mitocondrial.

Una vez formada la vacuola del fagosoma los macrófagos destruyen al patógeno generando ROS. Estas se forman por la activación de la NOX, debido a que recibe un e^- de la NADPH para donarlo al oxígeno singulete ó moléculas con lo que se va a formar O_2^- y la posterior producción de H_2O_2 el cual va a formar $\bullet OH$ además de que va a oxidar a los iones cloruro para formar ClOH, para que con esto se pueda garantizar la destrucción del agente causal (citado en Rivas-Arancibia et al., 2011; Camps et al., 2009; Konisberg et al., 2008).

Especies Reactivas de Oxígeno como Señalizadores

Las ROS son un componente fundamental en la señalización redox, uno de los ejemplos es el mantenimiento de la homeostasis redox en la cual el incremento de las ROS induce un aumento de antioxidantes. Por otra parte, se requieren bajas concentraciones de ROS para que estas moléculas presenten una capacidad de señalización fisiológica.

Dentro de las funciones en que participan las ROS se incluye: la regulación de tono vascular, el control de la ventilación, la producción de eritropoyetina, la transducción de señales de receptores de membrana; renovación de las membranas, así como en la plasticidad y sobrevivencia celular; también las ROS participan en la división celular en etapa embrionaria (mitosis), así como en el incremento de la transcripción de citocinas pro-inflamatorias e incluso las ROS como segundos mensajeros. Además de las funciones antes citadas, también se ha descrito que presentan funciones de mediadores en la síntesis de prostaglandinas, colesterol y hormonas esteroideas (citado en Maldonado et al., 2010; Dorado et al., 2003).

ESTRÉS OXIDATIVO

El término estrés oxidativo es descrito por primera vez por el médico alemán Helmut Sies en el año 1985, el cual lo define como: “**Un desbalance entre especies reactivas de oxígeno y sistemas antioxidantes**”. Además, también formula la hipótesis de que los sistemas biológicos en condiciones fisiológicas, presentan un balance entre ROS y los sistemas antioxidantes, desarrollando así el concepto de homeostasis redox (Sies et al., 1985). (Figura 3)

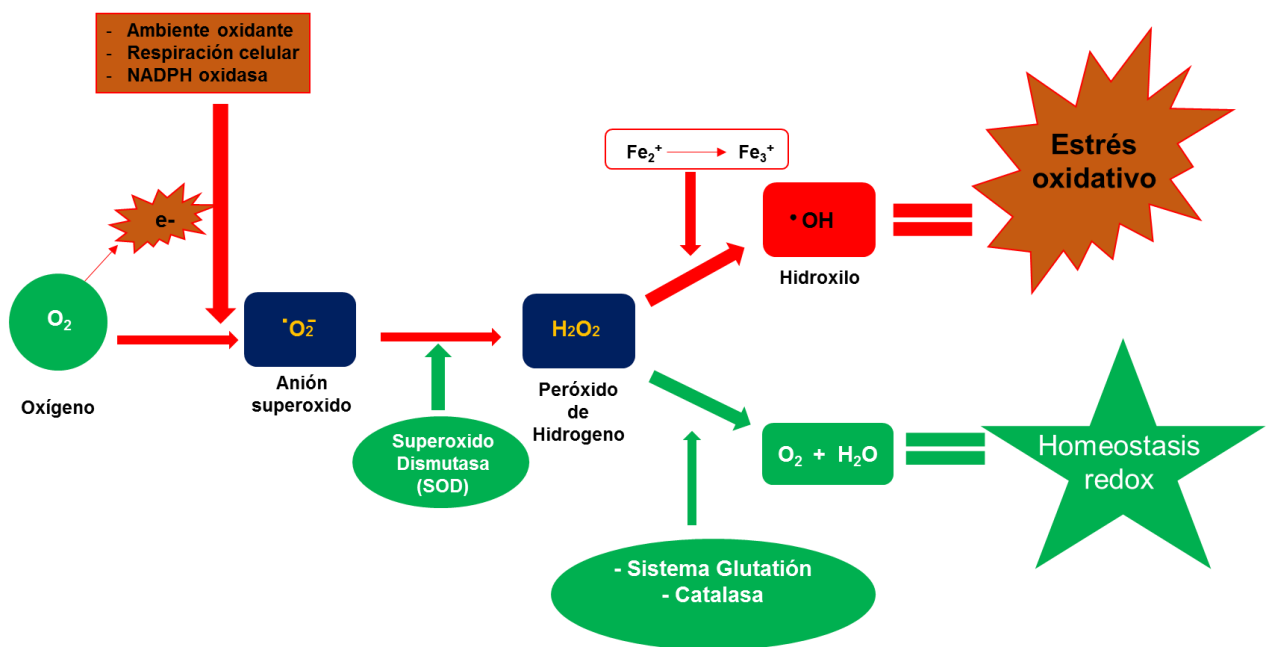


Figura 3. Formación de especies reactivas de oxígeno. Las Especies Reactivas de oxígeno (ROS de sus siglas en inglés) se forman a partir de O_2 , el cual es utilizado por la respiración para oxidar la glucosa y formar ATP en la mitocondria; al ceder el O_2 su electrón se forma el $\cdot O_2^-$ el cuál es dismutado por acción de la SOD, para formar H_2O_2 . Dependiendo del estado redox la vía puede tomar dos caminos uno por medio de la reacción de Fenton y así formar radical $\cdot OH$ y generar estrés oxidativo. El otro camino que puede tomar la vía es que por acción de los sistemas antioxidantes (sistema glutati6n, catalasa) de origen a O_2 y H_2O para así mantener un equilibrio redox.

Al momento de que la célula pierde el balance redox, se presenta un alto riesgo de desarrollar daño a otras biomoléculas, como las proteínas, los lípidos, los carbohidratos, así como los ácidos nucleicos.

a) Daño oxidante a proteínas

Las proteínas son después del H₂O, las sustancias más abundantes en los sistemas biológicos; por lo cual, son un blanco importante para los RL y las ROS (Valko et al., 2006).

La modificación oxidante de las proteínas en condiciones aeróbicas secundaria a la exposición de RL o ROS, inducen la formación de hidroperóxidos, hidroxilación de grupos aromáticos y aminoácidos alifáticos de cadenas laterales, nitración de residuos de aminoácidos aromáticos, oxidación de grupos sulfidrilo, sulfoxidación del aminoácido metionina, cloración de grupos aromáticos y grupos amino primarios, conversión de algunos aminoácidos a derivados carbonílicos, ruptura de la cadena polipeptídica y formación de puentes cruzados. Por otro lado, también se pueden modificar las proteínas en condiciones anaeróbicas ya que los RL promueven el entrecruzamiento entre proteínas, provocando una gran fragmentación de la cadena peptídica (Valko et al., 2006).

La mayoría de los procesos de modificación antes citados, también se encuentran descritos en el envejecimiento y las enfermedades crónico degenerativas (citado en Camps et al., 2009). Además de los procesos de modificación proteica, también se encuentran descritas, alteraciones como el proceso de carbonilación, debido al daño oxidante sobre los aminoácidos (arginina, lisina, teronina) de las cadenas laterales de las proteínas, provocando así que dicha proteína reaccione con los azúcares reductores (reacciones de glicación o glucosilación). La presencia de estos grupos carbonilo en las proteínas les provoca oxidación y daño irreversible e irreparable, debido a esto, se utilizan estas proteínas oxidadas como marcador de daño oxidativo (Dalle-Donne et al., 2003).

b) Daño oxidante a Carbohidratos

La glucosa es el carbohidrato más abundante dentro de la célula; este monosacárido tiene como función primordial el proveer de energía a la célula y al organismo; sin embargo, el aumento de la glucosa en la célula causa daño oxidante, el cual se debe a que existe un incremento en la producción de piruvato proveniente de la glucólisis; este piruvato ingresa a la mitocondria por la activación de las lanzaderas de citrato; una vez dentro de la mitocondria el piruvato se descarboxila para así aumentar las concentraciones de acetil-CoA y proveer al ciclo de los ácidos tricarbónicos (Ciclo de Krebs) para la formación de 38 ATPs; pero durante este proceso metabólico se incrementará la reducción de O_2 con lo que se formará O_2^- y daño oxidante (Dalle-Donne et al., 2004; Calderón et al. 2013).

Por otro lado, también está descrito que la auto-oxidación de la glucosa se desarrolla en los pacientes diabéticos con más frecuencia, debido al incremento en las concentraciones de este monosacárido a nivel celular (González-Torres et al., 2000); esta auto-oxidación provoca la formación acelerada de un enediol (compuesto orgánico, el cual presenta dos grupos hidroxilo unidos por un doble enlace) (Inagi et al., 1999).

Una vez formado el enediol este reacciona con metales de transición como el ion férrico (Fe^{+3}) asociado a una proteína, además el O_2 al interactuar con la glucosa forma un producto derivado de su oxidación el cual es la proteína 1,4 dideoxiglucosona; la cual tendrá la característica de generar daño oxidante en cadena, fenómeno que producirá desarrollo de los productos de glicación avanzada (AGE) (Dalle-Donne et al., 2004; Calderón et al., 2013).

Para que se lleve a cabo el desarrollo completo de los AGE, la glucosa va a reaccionar con grupos amino, lo que produce bases de Schiff y productos de Amadori, los cuales ya son clasificados como proteínas glicadas (Calderón et al.,

2013). Todas las reacciones de glicación no enzimática de las proteínas generan ROS durante su metabolismo (González-Torres et al., 2000).

Dentro de los productos de Amadori, más utilizado en la práctica clínica diaria para determinar el control glicémico en los pacientes que padecen diabetes mellitus esta la hemoglobina glicosilada (Calderón et al. 2013).

c) Daño oxidante a lípidos

El daño provocado por las ROS sobre los lípidos comienza cuando un RL ataca al carbono de la cadena alifática de un ácido graso poli-insaturado, lo que provocara la ruptura de los gradientes iónicos transmembrana, pérdida de la fluidez y flexibilidad membranal, debido a que, disminuye la cantidad de dobles ligaduras de la membrana lo que induce su rigidez; además de lo anterior, otro daño ocasionado por las ROS sobre los lípidos es la peroxidación también llamada lipoperoxidación, la cual es definida como un proceso químico donde las reacciones de oxidación son sobre los ácidos grasos poliinsaturados presentando dos vías la no enzimática como la enzimática (Valko et al., 2006).

La vía no enzimática de la peroxidación de lípidos, se inicia cuando las ROS dañan a los lípidos de membrana, mientras que los RL de los lípidos resultantes propagan el proceso de peroxidación; esto lleva a que se acumulen mayor cantidad de hidroperóxidos, los cuales se descomponen en una variedad de productos terminales dentro de los que podemos citar: el malondialdehído (MDA), el 4-hidroxi-2-nonenal (HNE) y 4-hidroxi-2-hexenal (HHE) (Valko et al., 2006), los cuales se encuentran íntimamente relacionados con la resistencia a la insulina (Marseglia et al. 2014).

En el caso, de la vía enzimática de peroxidación de lípidos, el mecanismo por el cual se liberan ácidos grasos oxidados a la membrana se debe a la acción de enzimas como las fosfolipasas y de otras lipasas (citado en Rivas-Arancibia et al., 2011; Konisberg et al., 2008).

Debido a los efectos deletéreos que pueden provocar la peroxidación de lípidos, sobre las células (pérdida de sus funciones) y en los sistemas biológicos completos, es importante cuantificar los productos de la descomposición de hidroperóxidos lipídicos, tales como el MDA, el cual es capaz de reaccionar con ácido tiobarbiturico, por lo cual se le llama sustancia reactiva al ácido tiobarbiturico (TBARS) (Lazzarino et al., 1995).

d) *Daño oxidante a ácidos nucleicos*

En el caso de los ácidos nucleicos, estos pueden ser dañados por las ROS, debido a la alta citotoxicidad que presenta el $\bullet\text{OH}$, sobre las bases y azúcares del ácido dextrorribonucleico (ADN), ya que el $\bullet\text{OH}$ tiene la capacidad de separar átomos de H^+ , así como también puede formar abductos lo que provocara ruptura de las cadenas del ADN (Siems et al., 1995).

Por otro lado, es importante considerar que una de las bases nitrogenadas más fácil para ser oxidadas por las ROS es la guanina, esto se debe a que presenta un potencial de ionización más bajo que le resto de los ácidos nucleicos (Siems et al., 1995).

Daño Mitocondrial

La mitocondria además de producir energía también desarrolla numerosas funciones vitales para la célula, incluyendo la respiración, la regulación de las concentraciones de calcio (Ca^+) intracelular, así como en el control de la β -oxidación de los ácidos grasos (Di Meo et al., 2016).

Con base en las funciones ya descritas, se encuentra ampliamente aceptado que el daño mitocondrial está implicado en la fisiopatología de múltiples enfermedades degenerativas, entre ellas la obesidad y sus comorbilidades. Ya que durante la diferenciación adipocitaria la biogénesis mitocondrial se incrementa rápidamente, lo que provocara que se eleve la producción de ATP debido a que se aumenta la fuga de e^- , además de que incrementa la oxidación de los ácidos grasos, sobre la secreción de adipocinas y modificación en la homeostasis de la glucosa (Di Meo et al., 2016; Manna et al., 2015).

Además de los efectos deletéreos provocados por el daño mitocondrial ya descritos, también se ha propuesto que esta disfunción modula la activación del receptor del tipo Nod-Like (NLRs) del subtipo P3 (NLRP3) inflamosoma. Por otra parte, la sobreproducción de ROS mitocondrial también produce reducción en las concentraciones del dinucleótido de adenina nicotinamida (NAD^+) por mecanismos no esclarecidos aún (Gurung et al., 2015; Abderrazark et al., 2015).

INFLAMACION

La inflamación sistémica es un proceso que se desarrolla en respuesta a una infección, enfermedad autoinmune o enfermedades crónico degenerativas, durante la cual el sistema inmune produce un incremento de citocinas pro-inflamatorias incluyendo a la proteína C reactiva (PCR), así como un aumento en la infiltración de los macrófagos sobre el tejido periférico. Sin embargo, durante este proceso no se provoca ningún tipo de lesión o pérdida de la función sobre el tejido infiltrado; característica que se presenta en los estados inflamatorios crónicos subclínicos de bajo grado como en la obesidad (León-Pedroza et al., 2015).

El desarrollo del estado inflamatorio en la obesidad se debe a la alta ingesta de azúcares y grasas provenientes de la dieta, lo que provoca un desbalance entre ingesta y gasto energético, causando que se almacenen una mayor cantidad de ácidos grasos en el tejido adiposo subcutáneo, pero cuando el adipocito llega a su umbral de almacenamiento, se incrementa la tasa de proliferación y diferenciación de pre-adipocitos a célula adiposa madura, fenómeno conocido como hiperplasia adipocitaria (León-Pedroza et al., 2015; Izaola et al., 2015). Sin embargo, si el tejido adiposo subcutáneo es incapaz de almacenar el exceso de energía o es rebasado su umbral de almacenamiento, se incrementarán los depósitos de tejido adiposo visceral, los cuales presentan menor capacidad adipogénica y mayor tasa de hipertrofia (Izaola et al., 2015).

Este desbalance entre hiperplasia e hipertrofia se asocia con una remodelación en la estructura de los adipocitos, lo que da como consecuencia una disminución en la fracción estromal vascular del tejido desarrollando hipoxia en los adipocitos que se encuentran más lejanos al estroma, acelerando la necrosis adipocitaria, lo que trae como respuesta estrés oxidativo y la secreción de citocinas pro-inflamatorias como la interleucina-1B (IL-1B), interleucina-6 (IL-6), así como también la PCR, (citado en Flores-Lazaro et al., 2011). Además se activa el complejo celular NLRP3 inflamasoma por dos vías o mecanismos moleculares: el

primero se debe a la activación de los receptores transmembranales tipo toll (TLRs) los cuales se unen a los patrones moleculares asociados a patógeno (PAMPs) estos son estimulados por los LPS. Una vez activados los TLR, las proteínas cinasa asociada al receptor IL-1 (IRAK) interactúan con el factor asociado al receptor TNF (TRAF-6) para posteriormente activar a la cinasa activada de TGF- β (TAK-1), la cual será la encargada de fosforilar al complejo enzimático IKK destruyendo al inhibidor que une al factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF-kB) con el IKK, con lo que queda libre el NF-kB para poder así ingresar al núcleo e iniciar la transcripción de pro-IL-1 β , así como promover la activación de NLRP3, posteriormente debido al daño mitocondrial se incrementaran la secreción de ROS, lo que estimula la adhesión de la proteína adaptadora de dominio ASC y de la pro-caspasa-1, conformado así al complejo NLRP3 inflamosoma, siendo este proceso el mecanismo más aceptado por el cual se mantiene la inflamación crónica en la obesidad; sin embargo el segundo mecanismo descrito hasta ahora para la activación del complejo NLRP3 inflamosoma se debe a varios mecanismos moleculares los cuales son: a) la entrada de Ca⁺ y salida de potasio (K) de la célula, b) la secreción de ROS mitocondrial, c) el daño mitocondrial, d) disfunción autofagica (Gurung et al., 2015; Yu et al., 2016; Haneklaus et al., 2015). (*Figura 4*)

Otro mecanismo que hay considerar en el desarrollo de la inflamación en la obesidad es que los macrófagos tienen un papel fundamental en el tejido adiposo, ya que una vez que se altera el almacén de lípidos, los fibroblasto pueden transformarse tanto en macrófagos como en pre-adipocitos; sin embargo por mecanismos aún desconocidos el fibroblasto forma macrófagos en tejido adiposo visceral los cuales se pueden diferenciar (cambio fenotípico) de un estado de polarización M2 con capacidad anti-inflamatoria a un estado M1 el cual tiene una capacidad pro-inflamatoria (Izaola et al., 2015). Estos cambios fenotípicos de los macrófagos son producidos por la secreción de la proteína quimioatrayente de macrófagos (MCP-1), por el NF-kB y por la propia catalización de la PCR (León-Pedroza et al., 2015; Izaola et al., 2015; Yousuf et al., 2013).

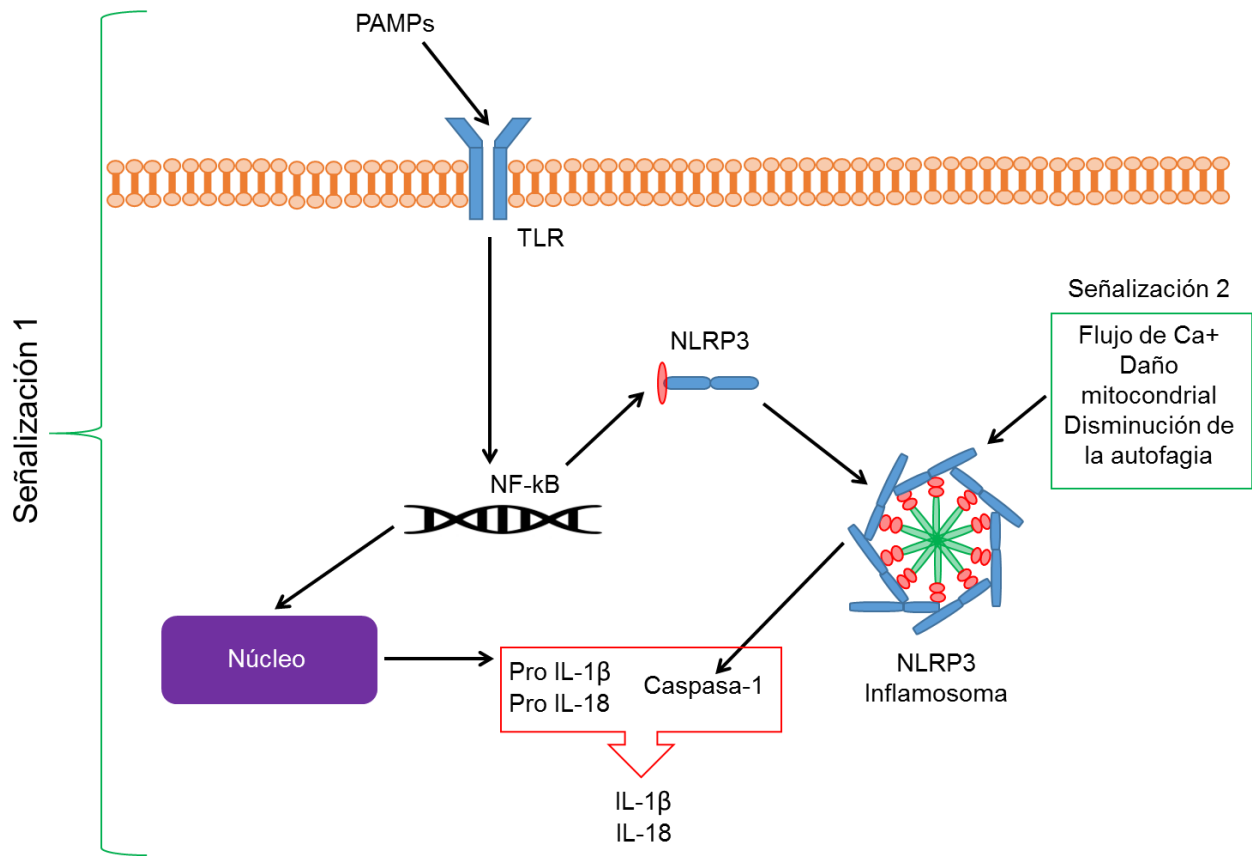


Figura 4. Activación del NLRP3 inflammosoma. Señal 1: Estimulación de los receptores tipo Toll por parte de los PAMPs, este hecho provocará la translocación del NF-κB al núcleo y la formación de la pro-IL1β y pro-IL18; además el NF-κB también activa al receptor NLRP3el cuál conforma al complejo NLRP3-inflamosoma. Una vez formado este complejo se formará la Caspasa-1 la cual promoverá la formación de la IL-1 β y la IL-18. Señal 2: Otro mecanismo que promueve la conformación del NLRP3 inflammosoma se debe por alteraciones en el flujo del Ca⁺, por daño mitocondrial y por la disminución de la autofagia.

Proteína C reactiva

La PCR es descubierta en 1930 por los investigadores estadounidenses William Tillet y Thomas Francis Jr. Dentro de las primeras descripciones observaron que los sueros de los pacientes que presentaban inflamación aguda reaccionaban con el polisacárido C del neumococo, motivo por el cual decidieron llamarla Proteína C Reactiva (citado en Faraj et al., 2012).

Esta proteína es una globulina que se encuentra en el brazo corto del cromosoma 1 tiene un peso molecular de 118 kda, está conformada por cinco subunidades; y se produce en el hepatocito y en la célula adiposa (Pennacchiotti et al., 2012). Además, debido a la activación del NF- κ B (Zhou et al., 2015) es regulada principalmente por los factores transcripcionales de la IL-6 y del factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α). La activación del NF- κ B provoca un incremento en la secreción de la PCR por parte del hepatocito y de la célula adiposa estimulando el cambio de la polarización de los macrófagos residentes en el tejido adiposo promoviendo así la respuesta inflamatoria (Yousuf et al., 2013). Por tal motivo en la literatura se ha identificado a la PCR como un marcador de daño inflamatorio.

OBESIDAD INFANTIL

Definición

La OMS define a la obesidad en cualquier etapa de la vida como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para para la salud (OMS-Obesidad y sobrepeso 2016). En el caso de la edad pediátrica la definición de sobrepeso y obesidad es más compleja debido a que el IMC es independiente de la edad y del sexo del niño, por este motivo se desarrollaron puntos de cohorte específicos, los cuales fueron determinados por estudios multicéntricos en diferentes poblaciones logrando, criterios diagnósticos homogéneos en pediatría (Kaufer-Horwitz et al., 2008; Salinas-Martínez et al., 2013).

Actualmente en México se realiza el diagnóstico de sobrepeso y obesidad en pediatría de acuerdo con los lineamientos de la CDC-OMS en donde el sobrepeso corresponde al percentil 84 al 94 y los que estén por encima del percentil 95 serán clasificados en obesidad (Kaufer-Horwitz et al., 2008; Salinas-Martínez et al., 2013).

A pesar de la gran cantidad de investigaciones que se han realizado sobre el origen del sobrepeso y la obesidad a cualquier edad, aún no está claro cuáles son los mecanismos implicados en su fisiopatología. Sin embargo, se encuentra aceptado que el origen del sobrepeso y la obesidad es de tipo multifactorial dentro de los que destacan: los factores genéticos, ambientales, metabólicos y psicosociales (OMS-Obesidad y sobrepeso 2016).

La edad preescolar que corresponde entre 3 a 5 años, es clave para el desarrollo de la obesidad, ya que durante esta etapa se lleva a cabo la programación y distribución del tejido adiposo que se tendrá a lo largo de la vida (Taylor et al., 2005; Rolland-Cachera et al., 2006).

Epidemiología

Desde los años 40 del siglo pasado el Dr. Federico Gómez, encabezó al grupo de investigadores que tenían una preocupación principal, la desnutrición, hoy en día y 75 años después de sus primeras publicaciones, el estado de salud de la población infantil ha cambiado de forma radical ya que se observan los dos fenómenos de malnutrición: la desnutrición, el sobrepeso y la obesidad.

México actualmente se encuentra en un proceso de transición epidemiológica, ya que la esperanza de vida de la población aumenta, por lo que las enfermedades crónico degenerativas elevan su prevalencia. Situación que no excluye a la etapa pediátrica debido al aumento exponencial de peso corporal en edades tempranas de la vida; ya que se comienzan a reportar enfermedades asociadas a la obesidad en niños de edad escolar (6 a 12 años), como diabetes mellitus tipo 2, dislipidemia, resistencia a la insulina, hipertensión arterial y síndrome metabólico (Liem et al., 2013).

La OMS reporta en el año 2014, que la prevalencia de sobrepeso y obesidad es de 41 millones de niños en edad preescolar en el mundo, de los cuales 31 millones viven en países desarrollados y en vías de desarrollo (OMS-Obesidad y sobrepeso 2016). En México se realiza cada cuatro años la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT), la cual reporta en el año 2012, una prevalencia nacional de 9.7%, en niños menores de 5 años sobrepeso y obesidad. Por su parte, en la Ciudad de México se reporta en esta misma encuesta, una prevalencia del 38.9% de niños menores de 5 años con sobrepeso y obesidad. Si estos datos de la encuesta del 2012, son comparados con los reportados por esta misma encuesta en el año 2006, se observa un aumento de casi 32% (Gutiérrez et al., 2012).

Con base en los resultados reportados por la ENSANUT, y los de la OMS, México se encuentra dentro de los primeros lugares de sobrepeso y obesidad en edad pediátrica (2 a 18 años) en el mundo (Kaufer-Horwitz et al., 2008). Y si esta tendencia epidemiológica continua como hasta ahora, el costo de las complicaciones asociadas a la obesidad serán incosteables para los servicios de salud de este país; por lo que es imprescindible realizar un tamizaje oportuno a etapa pediátrica, incluso desde la edad preescolar.

Situación de la obesidad en edad pediátrica en la Ciudad de México

En el caso de la Ciudad de México, la cifra de niños de 0 a 12 años de edad presenta una prevalencia del 35%, datos similares a la media nacional (Gutiérrez et al. 2012). Sin embargo, la Secretaria de Salud de CDMX en conjunto con la Alianza por la Salud Alimentaria del Distrito Federal en el año 2013 realizo un censo de pacientes en edad escolar en donde reportaron que se presentaba una prevalencia del 43% de niños con sobrepeso y/o obesidad; siendo las demarcaciones más afectadas: Iztacalco, Azcapotzalco y Miguel Hidalgo (SSADF 2013).

Fisiopatología

El tejido adiposo es un órgano con funciones principalmente endocrinas, y se encuentra compuesto por adipocitos, pre-adipocitos, células endoteliales, fibroblastos, mastocitos, macrófagos, y linfocitos “T”, que en conjunto desarrollan funciones de balance endocrino e intervienen en: a) el mantenimiento del balance energético; b) la termorregulación, c) el metabolismo de lípidos y glucosa; d) así como la modulación de la función hormonal y reproductiva; e) sobre la regulación de la tensión arterial y f) en la coagulación sanguínea (Izaola et al., 2015).

Otro punto que se debe considerar en la fisiopatología de la obesidad en edad pediátrica, es la etapa preescolar, que está comprendida entre los 3 a 5 años y es el periodo en que se programa y distribuye el tejido adiposo que se tendrán a lo largo de la vida (Rolland-Cachera et al., 1982). Por otra parte, si esta programación y distribución adiposa es modificada debido al consumo desmedido de calorías vacías, las cuales en la mayoría de los casos se encuentran en bebidas carbonatas y alimentos con alto contenido de azúcares como el jarabe de maíz de alta fructuosa (Pérez-Morales et al. 2012); que se estima es el endulzante calórico más utilizado desde los años setenta, ya que presenta un bajo costo de producción, por lo que se utiliza para todo tipo de bebidas carbonatadas, endulzadas, y en la mayoría de los alimentos procesados (*Figura 5*). Este endulzante es un monosacárido que al momento de ingresar al organismo es rápidamente transportado por los transportadores GLUT 2 y 5 al interior de la célula, para ser metabolizadas por la fructoquinasa, posteriormente es fosforilada por la fructuosa 6-fosfato e isomerizada por la aldosa B-dihidroxicetona fosfato (DHAP), provocando glicocilación y posterior formación de acetil-CoA, a partir de los cuales se formaran triglicéridos (Jiua et al. 2014). También el alta fructuosa presenta la característica que puede pasar fácilmente a la circulación y al cerebro “sin ser censada” por el organismo, lo que se traduce en un aumento de calorías por carbohidratos sin la correcta respuesta y señalización de la insulina (Rupérez et al. 2014). Por este motivo, es importante comenzar a incidir sobre el cambio del estilo

de la vida en las familias, ya que se programarán células adiposas con alta capacidad de hipertrofia, lo que llevara al desarrollo de complicaciones asociadas a la obesidad a edades más tempranas de la vida.

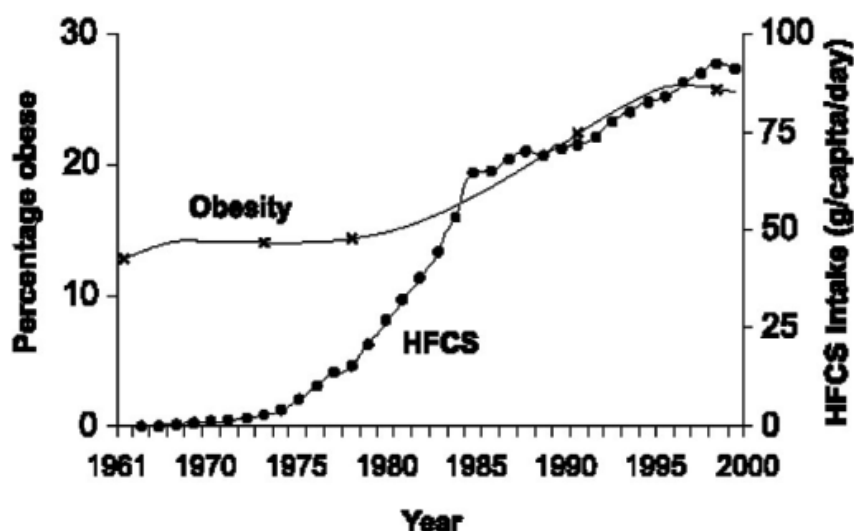


Figura 5. Asociación entre el aumento del consumo de jarabe de maíz de alta fructosa y la prevalencia de la obesidad de 1960 al año 200. Grafica tomada de Rippe, J. & Angelopoulos, T. (2013). Sucrose, High-Fructose Corn Syrup, and Fructose, Their Metabolism and Potential Health Effects: What Do We Really Know?. *Advances In Nutrition: An International Review Journal*, 4(2), 236-245. <http://dx.doi.org/10.3945/an.112.002824>.

Rol de las Especies Reactivas de Oxígeno en la Obesidad

En condiciones de equilibrio redox las ROS juegan un papel fundamental en el adipocito, ya que participan en la proliferación, la hipertrofia, y diferenciación de los adipocitos por mecanismos no esclarecidos aún, sin embargo, han surgido hipótesis sobre el papel que juegan las ROS en la obesidad; una de las primeras hipótesis sugiere que la estimulación por H_2O_2 promueve la diferenciación adipocitaria en ausencia de insulina, además de que promueve la proliferación de las ciclinas D1 y E en la adipogénesis en cultivos celulares de adipocitos (Rani et al. 2016). El mecanismo por el que las ciclinas actúan en la adipogénesis se debe a que durante la expansión clonal adipocitaria, la cinasa dependiente de ciclinas inhibe a las subunidades p21 y p27, esto provocará que se suspenda la proliferación y facilitará la diferenciación de la célula adiposa (Han et al. 2016; Rani et al. 2016) (Figura 6).

Otra hipótesis propuesta de como las ROS regulan la diferenciación adipocitaria en las células madre mesenquimales por la activación del receptor gamma proliferador de peroxisoma (PPAR- γ) ya que las ROS actúan disminuyendo la actividad del factor de transcripción E2F el cuál regula la expresión de genes y además está implicado en la diferenciación de pre-adipocito en adipocito (Wang et al., 2015).

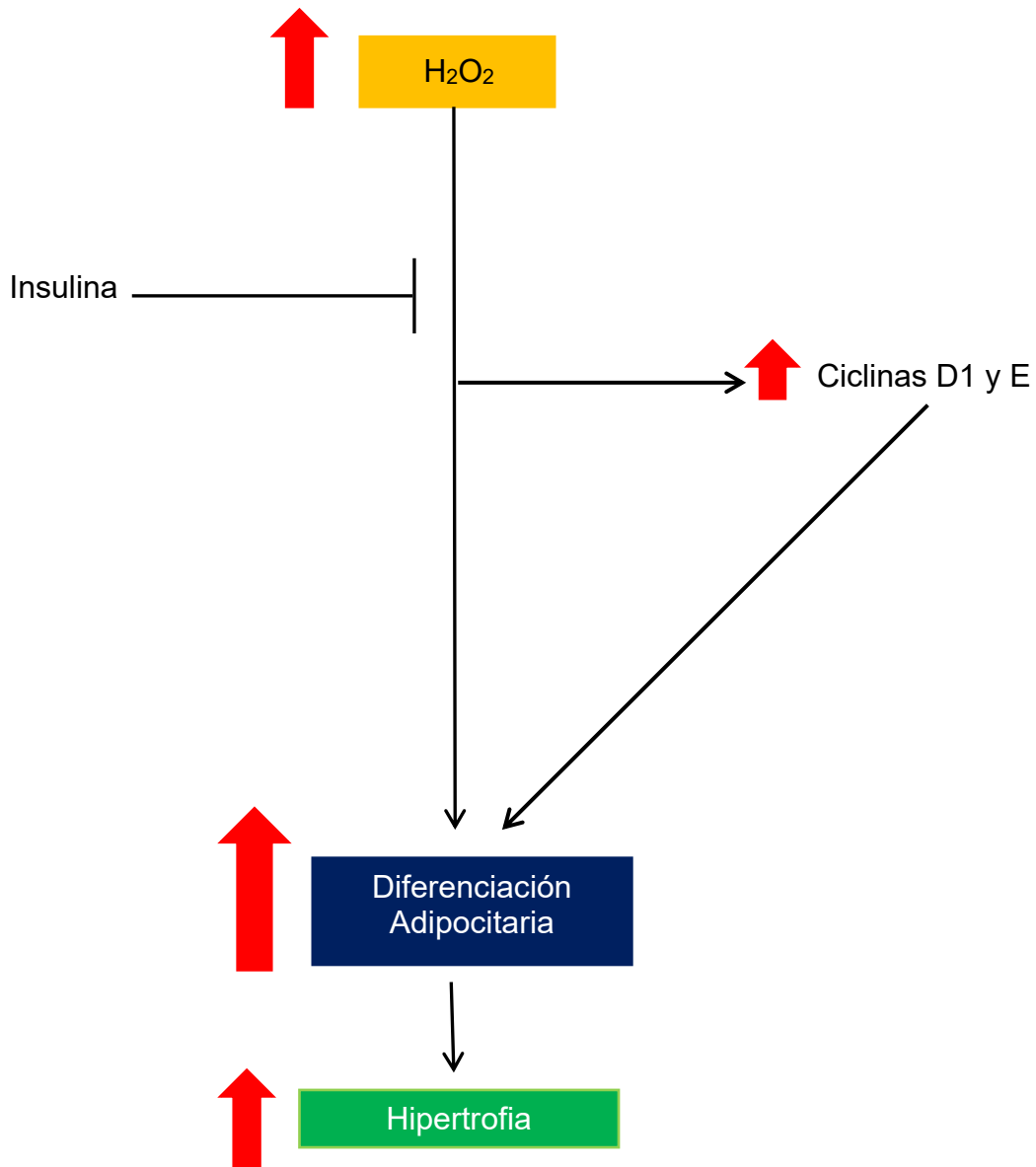


Figura 6. Hipótesis de como el H_2O_2 provocan el incremento en la diferenciación adipocitaria, debido al aumento en las ciclinas D1 y E.

Además de los mecanismos ya señalados, también se ha descrito en la literatura que la producción ROS en el adipocito se da por la activación de la NOX-4, que es estimulada por el exceso de glucosa proveniente de la dieta (Han et al., 2016), la NOX-4 tendrá como función la de señalar para así diferenciar en pre-adipocitos a células adiposas maduras, esto se da por la estimulación de los PPAR- γ , pero este mecanismo no está esclarecido aún.

Sin embargo, si la producción ROS en la obesidad continua, causará que la tasa de hipertrofia sea más alta que la de hiperplasia por mecanismos no esclarecidos. Sin embargo, al presentarse la hipertrofia se formarán de macrófagos del subtipo M1 a partir de pre-adipocitos por intermedio de la NOX-2. Este proceso da como resultado la producción de citocinas pro-inflamatorias como IL1B, IL-6, PCR, TNF- α dando mayor actividad, inflamatoria y cantidad de ROS (Han et al., 2016; Rani et al., 2016; Le Lay et al., 2014) (*Figura 7*).

En caso de continuar el desbalance entre la ingesta y el gasto energético, así como la formación exponencial de ROS por acción de la NOX-2 y 4 en el adipocito, este desarrollara daño mitocondrial debido al incremento de Ca y a la disminución del K, así como también a disfunción autofagica, proceso que iniciara la activación del NF-kB y formara pro-caspasa-1 e pro-IL-1 para la posterior conformación del complejo NLRP3 inflamosoma. Esto dará como consecuencia un incremento en el TNF- α , lo que disminuirá la diferenciación adipocitaria y la tasa de oxidación de grasas; promoviendo así la hipertrofia adiposa, la infiltración de ácidos grasos en el músculo (lipotoxicidad) y resistencia a la insulina (Gurung et al., 2015; Fernández-Sánchez et al., 2011; Codoñer-Franch et al., 2011). Convirtiendo al estrés oxidativo en pieza clave para el desarrollo de un círculo vicioso inflamación-estrés oxidativo y que en conjunto serán capaces de genera daño a múltiples órganos y sistemas.

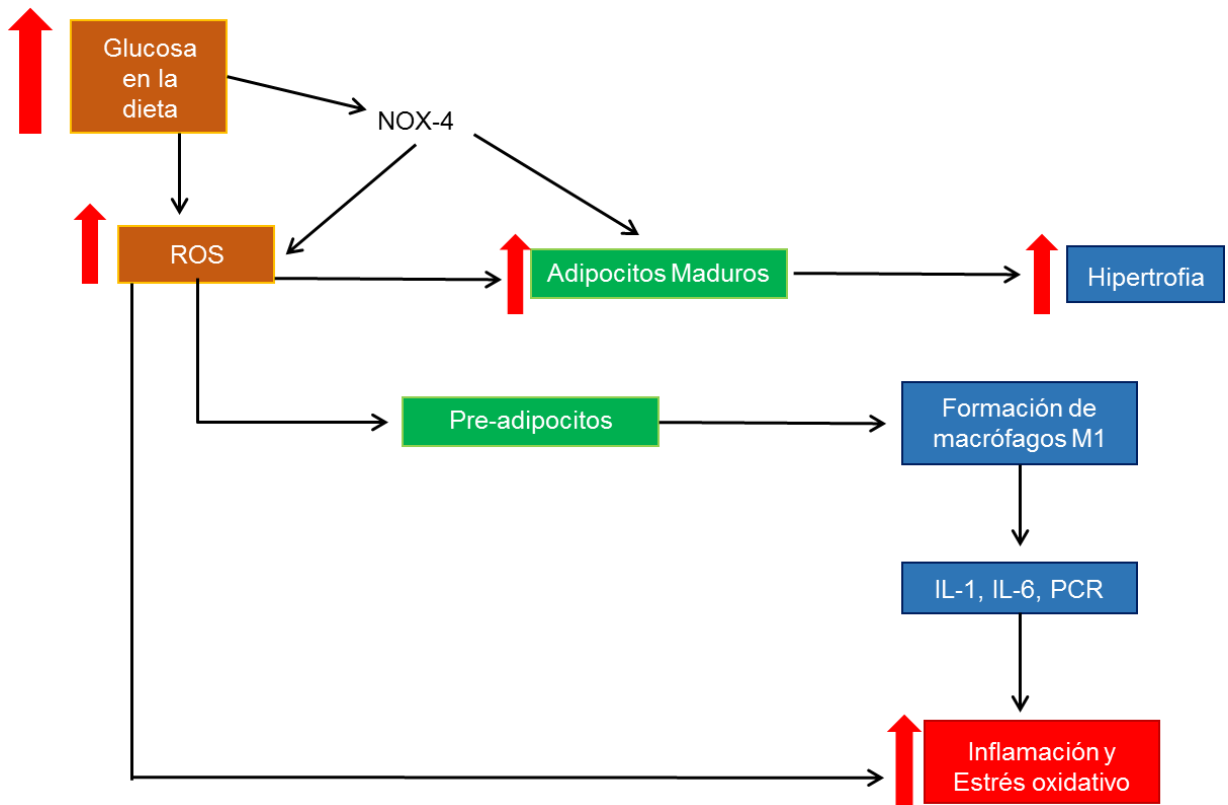


Figura 7. Hipótesis de como las ROS provocan el incremento en la tasa de hipertrofia adiposa, debido a la disminución en la expresión del factor de transcripción E2F.

Rol de la Hemo-oxigenasa-1 en la obesidad

En un equilibrio de óxido-reducción se han descrito mecanismos moleculares compensatorios para evitar el daño inflamatorio y oxidante. La HO-1 presenta un efecto anti-inflamatorio al disminuir la producción del factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) e inhibir la señalización de quinasas c-Jun N-terminal (JNK) y del NF-κB impidiendo la producción de citocinas pro-inflamatorias como la IL-6 y la PCR en el adipocito (Tu et al., 2014; Jais et al., 2014; Sanchez et al., 2005). Otras de las funciones descritas de la HO-1 sobre el tejido adiposo es su capacidad anti-oxidante, la cual está relacionada con la reducción del catabolismo oxidativo del grupo heme, dicha reducción se lleva a cabo, por la asociación entre el citocromo p-450 reductasa, NADPH y el O₂, dicha asociación catalizara al heme produciendo cantidades equimolares de CO, Fe²⁺ y biliverdina,

en consecuencia se convertirá en bilirrubina previniendo así la formación excesiva de ROS (Taemmi et al., 2013; Araujo et al., 2012; Burgess et al., 2010).

Sin embargo, se ha descrito en la literatura, que un alto consumo en edulcorantes y endulzantes como el jarabe de maíz de alta fructuosa, provoca un desbalance energético lo que condiciona hipertrofia adiposa y el posterior desarrollo de lipotoxicidad, esto incrementa la producción de ROS en el tejido adiposo lo que estimulara la formación de lípidos peroxidados, los cuales se cree que inducen la modificación covalente de la cadena B de la insulina, lo que trae como consecuencia clínica resistencia a la insulina; este hecho genera que se aumente la tasa de hipertrofia adipositaria, provocando la liberación de ácidos grasos iniciando todo el proceso fisiopatológico de las complicaciones asociadas a la obesidad. Motivo por el cual, se ha propuesto que ante la disminución de la actividad de la HO-1 se iniciara los procesos de daño (Abraham et al., 2016).

Diagnostico

Antropometría

La edad pediátrica es una etapa durante la cual el crecimiento es un proceso de constantes cambios, por lo que se cuantifica periódicamente. La forma más fácil para poder evaluar el crecimiento físico es la antropometría (Kaufer-Horwitz et al., 2008).

Esta valoración antropométrica proporcionará el estado de salud nutricio de cada individuo; sin embargo, en pediátrica se debe también considerar la edad, sexo de cada paciente para poder así determinar mejor la composición corporal del niño. Esta composición, está determinada por el peso corporal, la cual valora el agua corporal total, la masa grasa o adiposa, la masa visceral, la masa esquelética y la masa muscular (Lo et al., 2013).

Peso

Es la medida más empleada para determinar el estado nutricional en la edad pediátrica; se lleva a cabo con el niño con la menor cantidad de ropa posible parado de frente de la báscula y manteniéndose inmóvil durante la medición; ésta se recomienda realizarse en ayuno y a una hora similar para poder observar cambios a lo largo del tiempo (Lo et al., 2013).

Talla

También llamada estatura es utilizada a partir de los dos años de edad, y se considera la distancia de la línea medio antero superior de cráneo al suelo y se lleva a cabo con el niño descalzo, de pie con los talones juntos, piernas rectas, hombros relajados, mirando al frente y deberá estar pegado al estadímetro, para

posteriormente bajar la barra móvil de la barra medidora (Kaufer-Horwitz et al., 2008).

Índice de Masa Corporal

Índice propuesto por Quetelec en 1869, el cual se calcula, dividiendo el peso expresado en kg por su talla expresada en metros al cuadrado; este índice se ha utilizado por mucho tiempo para evaluar el estado nutricional en otras etapas de la vida, ya que presenta una alta correlación con adiposidad visceral; sin embargo, en pediatría también debe relacionarse con la edad y sexo del niño (Kaufer-Horwitz et al., 2008; Lo et al., 2013; Baughcum et al., 2014).

Puntuaciones Z

Criterio utilizado por la OMS, para evaluar el grado de compromiso de una medida, especialmente cuando se encuentra muy alejada de los valores extremos y es recomendada su utilización en pediatría en los indicadores de IMC para la edad, peso para la estatura, debido a que es más sensible a los cambios (Kaufer-Horwitz et al., 2008; Salinas-Martínez et al., 2014).

Sistema de centiles

Es una evaluación clínica en donde se gráfica el resultado del puntaje en Z, de los diferentes índices; la cual representa la posición del individuo respecto a la población de referencia, expresado en porcentaje (Salinas-Martínez et al., 2014).

En pediatría existen múltiples tablas percentiles donde se reportan signos vitales, peso, talla, IMC y se relacionan con la edad y sexo de cada paciente.

J U S T I F I C A C I Ó N

La obesidad es un serio problema de salud pública, tanto en el ámbito nacional como en el internacional, debido al rápido incremento en su prevalencia, así como en el desarrollo de complicaciones como: resistencia a la insulina, dislipidemia, diabetes mellitus tipo 2, hipertensión arterial y síndrome metabólico; los cuales se presentan cada vez a edades más tempranas de la vida; lo que lleva al deterioro, en la salud del individuo y disminución en su calidad de vida.

Esta disminución en la calidad de vida y las alteraciones metabólicas descritas en la obesidad en adultos, ya se comienzan a presentar en la edad escolar, acelerando la aparición de las complicaciones, asociadas a la obesidad. Por otra parte, el estudio del perfil metabólico y marcadores de estrés oxidativo en niños de 3 a 5 años (edad preescolar), tiene vital importancia ya que este rango etario es una etapa clave en el desarrollo, no solo de la obesidad sino de las complicaciones asociadas como la resistencia a insulina, la cual está relacionada con estados de estrés oxidativo y que en su conjunto son pieza clave en el desarrollo del síndrome metabólico en cualquier etapa de la vida.

H I P Ó T E S I S

Si los pacientes pediátricos en edad preescolar presentan obesidad, entonces esta producirá un estado de estrés oxidativo caracterizado por un incremento en los marcadores de estrés oxidativo, disminución de los sistemas antioxidantes lo que condicionará alteraciones sobre el perfil de lípidos, la proteína C reactiva y la insulina.

OBJETIVOS

Objetivo general

Identificar las alteraciones en los marcadores de estrés oxidativo, los sistemas antioxidantes, el perfil de lípidos, la proteína C reactiva, la insulina, así como en el cálculo por métodos indirectos para resistencia a la insulina en pacientes pediátricos, en edad preescolar de 3 a 5 años con obesidad en el Hospital Materno Pediátrico Xochimilco.

Objetivos específicos:

Objetivo 1:

Estudiar por medio de la evaluación clínica y nutricional de los niños preescolares con peso normal y con obesidad las diferencias entre el peso y la talla, cálculo de IMC y aplicarlo a las tablas de CDC-OMS para la edad. Además, realizar el diagnóstico nutricional utilizando puntaje en z

Objetivo 2:

Demostrar por medio de la evaluación bioquímica-clínica que los niños de 3 a 5 años con obesidad presentan alteraciones en: glucosa, colesterol, triglicéridos, lipoproteínas de alta densidad, lipoproteínas de baja densidad, proteína C reactiva y ácido úrico, al ser comparados con niños con peso normal.

Objetivo 3:

Determinar en suero las alteraciones en los marcadores de estrés oxidativo que presentan los niños preescolares con obesidad con respecto a los niños del grupo control sobre: lípidos peroxidados, proteínas oxidadas, glutatión reducido, glutatión oxidado y lipoproteínas de baja densidad oxidadas.

Objetivo 4:

Determinar en suero de niños preescolares obesos y con peso normal las concentraciones de los antioxidantes: glutatión total, glutatión peroxidasa 3, superóxido dismutasa Cu/Zn, catalasa y Hemo-oxigenasa-1; así como las actividades enzimáticas de: glutatión peroxidasa 3, superóxido dismutasa Cu/Zn y catalasa.

Objetivo 5:

Determinar en suero las modificaciones en la insulina de niños de 3 a 5 años con obesidad y compararla con niños con peso normal, así como calcular el índice HOMA-IR, HOMA-%B, HOMA-%S, índice TG/HDL, índice T/G, e índice QUICKI, los cuales son métodos indirectos para diagnóstico de resistencia a la insulina.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para dicho fin, se realizó un estudio de cohorte prospectivo, el cual se llevó a cabo en la Secretaría de Salud de la Ciudad de México, en el Hospital Materno Pediátrico Xochimilco, así como en la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Esta investigación fue sometida a evaluación y aprobación por parte de los Comités de Bioética del Hospital Materno Pediátrico Xochimilco (Reg. 311-001-0213) así como por la Secretaría de Salud de la Ciudad de México (CDMX) (Reg. 408-011-0213) y de la Facultad de Medicina, UNAM (Reg. 014/2013).

Selección de participantes

Los niños participantes en este estudio, fueron seleccionados de la consulta externa de pediatría para el control de niño sano del Hospital Materno Pediátrico Xochimilco de marzo a diciembre del 2013. Se explicó a los padres y/o tutores en qué consistía el estudio, para la firma de la carta de consentimiento bajo información de acuerdo al protocolo de la declaración de Helsinki.

Una vez que los padres y/o tutores aceptaron que sus hijos participaran en este estudio se distribuyeron en dos grupos no pareados: el grupo eutrófico o control fue conformado por niños con peso expresado en percentil 50 al 84 e índice z-score -1 a +1, mientras que el grupo de niños obesos, presentaron un peso expresado en percentil 95 o mayor e índice z-score +2 o superior (n = 50 por grupo). Los niños de ambos grupos tuvieron que cumplir con los siguientes criterios de inclusión: edad comprendida entre 3 a 5 años de edad, clínicamente sanos, sin malformaciones anatómicas, sin antecedente de dislipidemia familiar, sin enfermedades cardíacas, en ayuno de 12 horas y aceptación de los padres para participar en el estudio.

Determinación del estado nutricional

Se realizó una evaluación antropométrica de peso y talla, en presencia de los padres con los pacientes descalzos en posición firme, con los brazos en ambos lados del cuerpo, en ropa interior, utilizando una báscula marca Tanita modelo BF-2000 kids. El valor registrado se expresó en kilogramos. La estatura se determinó mediante técnica de plomada expresándose en centímetros. Posteriormente, para determinar el estado nutricional se calculó el IMC, con base en la fórmula de peso/talla² expresada en kg/m². Con los datos obtenidos, se realizó la gráfica en las tablas percentilares de IMC para la edad y sexo de la CDC, actualizadas en el año 2006 (CDC-OMS 2006). El puntaje en Z se considera de acuerdo a los criterios del OMS.

Determinaciones y análisis de laboratorio

En relación a las pruebas de laboratorio, las muestras de sangre, fueron tomadas en el laboratorio del Hospital Materno Pediátrico Xochimilco, por personal especializado para dicho fin, obteniendo por punción venosa 10 mL de sangre, previo ayuno de 12 hrs.; la cual fue centrifugada a 3,500 RPM, para así separar el plasma del hematocrito; posteriormente el plasma fue colocado en alícuotas de 1.5 ml y congeladas a -70 grados para su posterior utilización.

La cuantificación sérica de proteína C reactiva ultrasensible, se efectuó por medio de un nefelómetro marca Siemens modelo BN II, con un límite de detección de 0.1 mgs/dL de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Posteriormente se cuantificó el perfil de lípidos, triglicéridos, colesterol, total, lipoproteínas de baja densidad (LDL), lipoproteínas de alta densidad (HDL), glucosa, en un analizador de química sanguínea SYNCHRON CX7 (Berckman Coulter, Inc. Fullerton, California, USA), siguiendo las indicaciones del fabricante.

Peroxidación de lípidos

La cuantificación sérica de lípidos peroxidados (LPO), se realizó utilizando el método de TBARS. Para este fin, se siguió el protocolo de Buege-Agust modificado por Asakawa. El fundamento de este ensayo radica en que dos moléculas de TBARS y una MDA producen un complejo, que se expresa con un cambio colorimétrico, el cual se lee a una absorbancia de 532 nm. Esta reacción se produce un pH ácido a temperatura de 100 grados celcius (Asakawa et al. 1979). Con base en lo anterior se tomó una alícuota de 100 μ L de plasma de cada paciente (en triplicado) y se le adicionó solución de ácido tricloroacético al 15%, ácido tiobarbiturico al 0.5% y ácido clorhídrico al 0.25 N; posteriormente se incubó 1 hr a 100 grados C; se centrifugaron y el sobrenadante de la muestra se colocó en una placa para su cuantificación en un espectrofotómetro marca EPOCH modelo Biotek. Los datos obtenidos fueron comparados con una curva estándar de MDA y los valores se expresaron en ng/mL de TBARS en plasma.

Proteínas oxidadas

Los grupos carbonilo se detectaron por la reacción de éstos con la 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) para formar hidrazonas de proteínas (Reznick & Packer, 1994).

Se incubaron 300 μ L de plasma con 100 μ L de sulfato de estreptomina 10%, para eliminar los ácidos nucleicos de las muestras. Las muestras se incubaron 24 h a 4°C y se centrifugaron a 20,937 x g por 40 min a 4°C. Se tomó del sobrenadante dos alícuotas de 150 μ L cada una en tubos eppendof, a un tubo se le adicionaron 600 μ L de DNPH 10 mM en HCl 2.5 M y al otro 600 μ L de ácido clorhídrico (HCl) 2.5 M. Los tubos se incubaron 1 h a temperatura ambiente y en oscuridad, agitándolos cada 15 min. Posteriormente, se adicionó 750 μ L de ácido tricloroacético (TCA) al 20% a cada uno de los tubos y se incubaron a 4°C por 10 min, se centrifugaron a 2,236 x g por 10 min a 4°C; después, el sobrenadante se descartó y se realizó otro lavado

con 600 μL de TCA 10%, se centrifugaron los tubos a 2,236 x g por 10 min a 4°C. Finalmente, los precipitados se lavaron 3 veces con 600 μL de etanol-acetato de etilo 1:1 para remover el DNPH libre y los lípidos contaminantes. El precipitado final se disolvió en 1 mL de guanidina 6 M en amortiguador de fosfatos 20 mM (pH 2.3).

Los tubos se leyeron a 370 nm y el contenido de carbonilos se calculó empleando el coeficiente de absorción molar de la DNPH ($22,000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). El tubo de HCl se usó como blanco para cada muestra.

El contenido total de proteína en el precipitado final se determinó en los tubos con HCl por la lectura a 280 nm, empleando una curva estándar de albúmina (0.26-2.0 mg/mL) disuelta en guanidina 6 M. Los resultados se expresan como nmol/mg proteína.

Glutación total, oxidado y reducido

Las concentraciones de glutación total (GSH) fueron determinadas calculando el glutación total del plasma de los pacientes de acuerdo con el método de Boyne (Boyne et al. 1972); para posteriormente colocarle ácido 5-5'-ditio-bis-2-nitrobenzoico al GSH una vez que se realizó esta mezcla se agregó glutación reductasa; se incubó por 1 h y se procedió a medir la absorbancia a 412 nm en un espectrofotómetro marca EPOCH modelo Biotek. Los datos obtenidos se compararon con una curva estándar y los valores se expresaron en ng/mL de glutación oxidado (GSSG). Para la determinar el glutación reducido se calculó restando el GSH-total y el GSSG (Rahman et al. 2007).

Lipoproteínas de baja densidad oxidadas

La determinación de lipoproteínas de baja densidad oxidadas (LDL-ox), se realizó con un ensayo de inmuno-absorción ligado a enzimas (ELISA) tipo sándwich, utilizando un kit comercial marca Cell Biolabs No. STA-388 (USA) siguiendo las indicaciones del fabricante, en breve: se colocó 300 μ L. de solución de precipitado para LDL a las muestras de plasma de los pacientes, se centrifugación a 1,000 RPM a 4 grados C y se removieron 200 μ L de plasma de las muestras. Las muestras fueron incubadas por 5 min a temperatura ambiente. Después se centrifugó por 20 min a 2000 x *g* posteriormente se aspiró el sobrenadante y se colectó el pellet, el cuál fue resuspendido en solución salina amortiguada por fosfatos (PBS).

Una vez realizado el procedimiento, se colocó en los primeros ocho pozos de la placa en duplicado estándar LDL-ox para obtener la curva estándar; y en el resto de los pozos se colocó la muestra de cada paciente en duplicado, dejándose incubar por 1 h a temperatura ambiente; se realizaron tres lavados con buffer de lavado a 1X; después se le adicionó solución de bloqueo y se dejó incubando por 1 h a temperatura ambiente; después se lavó cinco veces con buffer de lavado 1X; posteriormente se colocó anticuerpo biotilnado para humano Apo-B100 y se dejó incubando a temperatura ambiente por 1 h; nuevamente se lavó cinco veces, se adiciono el conjugado de la enzima-estreptavidina, se incubó por 1 h; se lavó cinco veces y se le colocó la solución de sustrato incubándolo por 20 min una vez que se obtuvo la reacción se colocó solución de parada y se procedió a la lectura a 450 nm con un espectrofotómetro marca EPOCH modelo Biotek. Con los datos obtenidos de los primeros pozos de la placa se representó gráficamente la curva estándar. Los datos de las concentraciones obtenidas fueron comparados con la curva estándar, para determinar las concentraciones de LDL-ox en cada muestra (μ g/mL).

Concentración de Glutación peroxidasa 3

La determinación de la GPx3, se realizó con un ELISA tipo sándwich utilizando un kit marca comercial marca My Biosource No. MBS704704 (USA) siguiendo las indicaciones del fabricante, en breve: para obtener la curva estándar se utilizaron los primeros pozos de la placa, al resto se le colocó 100 µL de plasma de los pacientes por duplicado, se dejó incubando por 2 hrs a 37 grados, después fue removido el contenido de la placa (sin lavado). Posteriormente se agregaron 100 µL de anticuerpo biotinilado de detección a GPx3 a 1X a cada pozo y se incubó por 1 hrs a temperatura ambiente; después se lavó la placa en tres ocasiones con solución de lavado, utilizando un lavador de placas marca Thermo. Luego se adicionó 100 µL de HRP estreptavidina en los pozos de la placa y se dejó incubar por 1 hrs a temperatura ambiente; se lavó la placa tres veces y se le adicionaron 90 µL de sustrato TMB en cada pozo incubando por 30 min. Finalmente se agregaron 50 µL de solución de parada y se procedió a la lectura en un espectrofotómetro marca EPOCH modelo Biotek a una absorbancia de 450 nm. Con los datos obtenidos de los primeros pozos de la placa se representó gráficamente la curva estándar, con el resto de los resultados obtenidos de las muestras estos fueron comparados con la curva estándar, para así determinar las concentraciones de GPx3 en cada muestra (ng/mL).

Actividad enzimática de Glutación peroxidasa 3

Se empleó el método de Lawrence y Burk (1976), en el cual la GPx cataliza la reducción del H₂O₂ acoplado a la oxidación del GSH a GSSG, el cual a su vez es reducido por el glutación reductasa (GR) en presencia de NADPH. La disminución de la concentración de NADPH se detectó a 340 nm.

Se mezclaron 100 µL de suero con 800 µL de una solución en amortiguador de fosfatos 50 mM (pH 7.0), de la siguiente composición: EDTA 1 mM, azida de sodio 1 mM, NADPH 0.2 mM, GSH 1 mM y 1 U de GR/mL. De la misma manera, se

preparó un tubo de actividad inespecífica con 100 μL de amortiguador de fosfatos 50 mM (pH 7.0). Los tubos se incubaron 5 min a temperatura ambiente y su contenido se adicionó a una celda de cuarzo que contenía 100 μL de H_2O_2 0.25 mM e inmediatamente se leyó la absorbancia a 340 nm cada 30 s durante 3 min.

La actividad de GPx se determinó promediando los cambios de absorbancia por min de la muestra menos el promedio de los cambios de absorbancia por min del inespecífico y multiplicando este valor por 12.8, factor que se obtiene del coeficiente absorción milimolar del NADPH (6.22) y el factor de dilución (8). Los datos se expresan como U/mL. Una unidad de GPx se define como la cantidad de enzima que oxida 1 μmol de NADPH por min.

Concentración de Superóxido Dismutasa

Para determinar las concentraciones séricas de SOD Cu/Zn, se realizó un ELISA tipo sándwich, utilizando un kit de marca comercial marca ABCAM No. Ab119520 (UK), el método se llevó a cabo de acuerdo con las indicaciones del fabricante, en breve: Se diluyó el plasma de los pacientes con PBS el cual se colocó en la placa (10 μL de plasma por 190 μL de PBS 1X).

Una vez terminado este procedimiento se utilizaron los primeros ocho pozos de la placa para así determinar la curva estándar, en el resto de la placa se colocó 100 μL de plasma por duplicado; después se adicionó 90 μL de PBS 1X en todos los pozos de la placa; a continuación, se agregó 50 μL de HRP estreptavidina en los pozos y se incubó por 3 hrs a temperatura ambiente. Posteriormente se realizó el lavado de la placa en tres ocasiones y se le adicionó 100 μL de sustrato 3,3', 5,5'-tetrametilbencidina (TMB) en cada pozo el cual se incubó por 10 min a temperatura ambiente. Finalmente se colocó 100 μL de solución de parada y se procedió a la lectura en un espectrofotómetro marca EPOCH modelo Biotech a una absorbancia de 450 nm. Con los datos obtenidos de los primeros pozos de la placa se representó gráficamente la curva estándar, con el resto de los resultados

obtenidos de las muestras estos fueron comparados con la curva estándar, para así determinar las concentraciones de SOD Cu/Zn en cada muestra (ng/mL).

Actividad enzimática de Superóxido Dismutasa

La actividad de SOD total se determinó por la reducción del NBT (Oberley & Spitz, 1984).

Se preparó xantina oxidasa 168 U/L y una mezcla de reacción de la siguiente composición: xantina 0.122 mM, EDTA 0.122 mM, NBT 30.6 μ M, albúmina 0.006% y Carbonato de Calcio (Na_2CO_3) 49 mM. Se colocaron 2.45 mL de la mezcla de reacción en tubos y se mantuvieron a 27°C. Se adicionaron 500 μ L de plasma e inmediatamente después la reacción se inició con la adición de 50 μ L de xantina oxidasa (8.4 U). Se preparó un blanco para cada muestra con los mismos reactivos, pero sin xantina oxidasa. De manera simultánea, se preparó un tubo de 100% de reducción del NBT el cual contenía xantina oxidasa, pero sin homogenizado. Los tubos se incubaron 30 min, se les adicionó 1 mL de CuCl_2 0.8 mM y se leyó la absorbancia a 560 nm. Los datos se expresan como U/ml. Una unidad de SOD se define como la cantidad de SOD necesaria para inhibir en un 50% la reducción del NBT.

Concentración de Catalasa

Para cuantificar las concentraciones séricas de catalasa se realizó un ELISA tipo sándwich, utilizando un kit de marca comercial Cell Biolabs STA-341 (USA), el método se llevó a cabo de acuerdo con las indicaciones del fabricante, en breve: en los primeros pozos de la placa fueron utilizados para determinar la curva estándar, posteriormente se colocó 10 μ L de plasma de los pacientes en cada pozo de la placa, después se le adicionó 20 μ L de diluyente estándar de catalasa en cada pozo, se le agregó 50 μ L de H_2O_2 en la placa dejándolo incubar por 1 min después se le agregó 250 μ L de solución cromogenica dejándose incubar por 60 min en vortex.

Finalmente se procedió a la lectura en espectrofotómetro marca EPOCH modelo Biotech a una absorbancia de 520 nm. Con los datos obtenidos de los primeros pozos de la placa se representó gráficamente la curva estándar, con el resto de los resultados obtenidos de las muestras estos fueron comparados con la curva estándar, para así determinar las concentraciones de catalasa en cada muestra (U/mL).

Actividad enzimática de Catalasa

Para esta determinación se usó el método de Aebi (1982) que mide la desaparición de H₂O₂ a 240 nm.

En una celda de cuarzo se colocaron 25 µL de plasma y se le adicionaron 725 µL de H₂O₂ 7.7 mM e inmediatamente se midió el cambio de absorbancia a 240 nm cada 15 s durante 2 min. De acuerdo a Aebi, se usó la constante de reacción de primer orden (*k*) como la unidad de actividad de la catalasa, la cual queda definida de acuerdo a la siguiente fórmula: $k = (1/t) (2.3 \times \log A_1/A_2)$ donde *t* = intervalo de tiempo medido, *A*₁ y *A*₂ son las absorbancias del H₂O₂ en los tiempos *t*₁ y *t*₂.

Concentración de Hemo Oxigenasa-1

Para determinar las concentraciones séricas de la proteína HO-1 humana, se realizó un ELISA tipo sándwich, utilizando un kit de marca comercial Enzo No. ADI-EKS-800, (USA) el método se desarrolló siguiendo las indicaciones del fabricante, en breve: para obtener la curva estándar se utilizaron los primeros pozos de la placa, en el resto se puso el plasma de los niños por duplicado, dejándose incubar por 30 min, posteriormente se lavó la placa en seis ocasiones, se adiciono el anticuerpo HO-1 anti-humano se incubó por 60 min, se lavó seis veces, luego se le colocó la solución de conjugado HRP y se incubo por 30 min; se procedió a realizar un tercer lavado y enseguida se adiciono solución de sustrato TMB dejándola incubar durante 15 min a temperatura ambiente, se añadió solución de parada y se procedió a la

lectura en un espectrofotómetro marca EPOCH modelo Biotek a una absorbancia de 450 nm. Con los datos obtenidos en los primeros pozos de la placa se realizó una curva estándar y se representó gráficamente, con los datos obtenidos de las muestras se determinaron las concentraciones de HO-1 (ng/dL).

Concentración de Insulina

La cuantificación de las concentraciones séricas de insulina, se realizó por medio de un ELISA tipo sándwich, utilizando un kit de marca comercial ABCAM No. Ab100578, (UK) el método se desarrolló siguiendo las indicaciones del fabricante, en breve: para obtener la curva estándar se utilizaron los primeros pozos de la placa, en el resto se colocaron 100 μ L de plasma en cada pozo por duplicado; a continuación, se agregó 100 μ L de solución estándar y se dejó incubando por 2.5 h a temperatura ambiente; posteriormente se retiró la solución estándar y se lavó la placa cuatro veces con solución de lavado, utilizando un lavador de placas marca Thermo; después se adiciono el anticuerpo biotilnado de detección de insulina 1X en cada pozo y se incubo por 1 h luego se lavó la placa en cuatro ocasiones con solución de lavado, una vez concluido este proceso se colocó solución HRP-estreptavidina en cada pozo y se dejó incubar por 45 min a temperatura ambiente; se lavó la placa cuatro veces y se adicionó el sustrato TMB en cada pozo, incubándose por 30 min a temperatura ambiente. Finalmente se vertieron 50 μ L de solución de parada y se procedió a la lectura en un espectrofotómetro marca EPOCH modelo Biotek a una absorbancia de 450 nm. Con los datos obtenidos de los primeros pozos de la placa se representó gráficamente la curva estándar y con los datos obtenidos de las muestras se determinaron las concentraciones de insulina (μ UL) y compararlas con la curva estándar.

Modelo homeostático de evaluación para resistencia a la insulina

Para determinar la resistencia a la insulina, se calculó el índice de modelo homeostático de evaluación para resistencia a la insulina (HOMA-IR) el cuál utiliza las concentraciones séricas de glucosa e insulina en ayuno expresada en mgs/dL dichas cifras fueron multiplicadas y el resultado dividido entre la constante 405 (Matthews et al., 1985). En relación al índice de HOMA-%B, que determina la función de las células beta pancreática, se calculó con un modelo algorítmico desarrollado por el Centro de Diabetes, Endocrinología y Metabolismo de la Universidad de Oxford. El índice de HOMA-%S, estima la sensibilidad a la insulina y se calculó con la calculadora del Centro de Diabetes, Endocrinología y Metabolismo de la Universidad de Oxford. Índice de QUICKI; Para el cálculo del índice QUICKI se realiza de acuerdo con la fórmula establecida $QUICKI = 1 / (\log \text{insulina} + \log \text{glicemia mgs/dL})$. Índice o razón Triglicéridos/lipoproteínas de alta densidad; Se tomaron los resultados de triglicéridos y de HDL-C expresados en mgs / dL, y se realizó el cálculo de acuerdo con Mc Laughlin y cols. Índice Triglicéridos/Glucosa.

Análisis estadístico

Se realizaron pruebas de homogeneidad de varianza Kolmogorov-Smirnovf y de acuerdo con la distribución de los datos se realizaron pruebas estadísticas no paramétricas, utilizando la prueba de U de Mann-Whitney, además se realizó una prueba de coeficiente de correlación de Spearman para determinar la asociación entre las variables de estudio; posteriormente se hizo una regresión lineal, utilizando el software Graph-Pad Prism VI ®.

RESULTADOS

Los niños preescolares que participaron en este estudio, se distribuyeron de la siguiente manera: el 48% fueron mujeres y 52% hombres; con una edad promedio de 4.1 años. En relación al estado nutricional, el 50% estaba clasificado entre el percentil 50 y el 84 (grupo de control) y el 50% restante estaba por encima del percentil 95, grupo de obesos.

Los resultados indicaron que el grupo de niños obesos presentó un incremento estadísticamente significativo en talla, peso, IMC, percentil IMC/Edad así como en la determinación del z-score/IMC en comparación con el grupo control (Tabla 1).

Variable n = 100	Control n = 50	Obesos n = 50	Valor de P
	Mediana	Mediana	
Talla (cm)	104.5	111	p < 0.047
Peso (kg)	15	23	p < 0.0001
IMC (kg/m ²)	14.8	17.55	p < 0.0001
Percentil IMC/Edad	20	95	p < 0.0001
z-score/IMC	-0.28	2.29	p < 0.0001

Tabla 1. Distribución de los datos antropométricos de los grupos de estudio.

Realizando la prueba estadística U de Mann-Whitney a los parámetros antropométricos estudiados; la talla en los niños obesos mostró diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.0047$), ($Me = 111$ cms) en comparación con los niños del grupo control ($Me = 104.5$ cms). El peso mostró diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$), ($Me = 23$ kgs) en comparación con los niños de control ($Me = 15$ kgs). Con respecto al IMC de los niños obesos tuvieron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p < 0,0001$), ($Me = 17.55$ kg/m²) cuando fueron comparados con los niños de control ($Me = 14.8$ kg/m²). El percentil IMC/edad de niños obesos se mostraron diferencias estadísticas ($p < 0,0001$), ($Me = 95$) en comparación con los niños de control ($Me = 95$). Por último, el z-score/IMC mostro diferencias significativas ($p < 0,0001$) en los niños obesos ($Me = 2.29$) en comparación con los niños de control ($Mediana = -0.28$) (Figura 8).

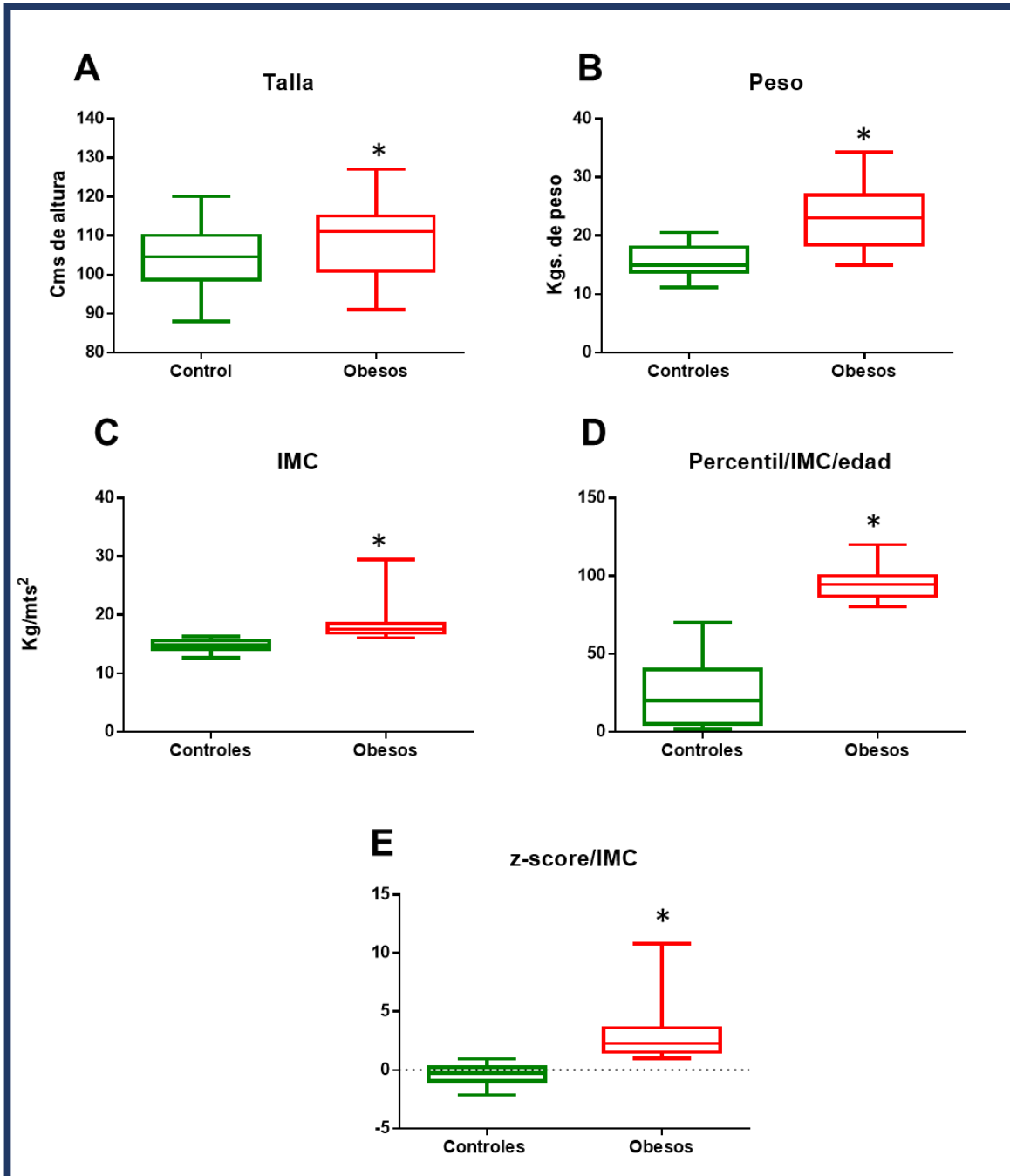


Figura 8. Efecto de la Obesidad en niños de 3 a 5 años sobre los parámetros antropométricos (n = 50 por grupo), grafica (A) Talla, (* p < 0.047) (B) Peso (* p < 0.0001), (C) IMC (* p < 0.0001), (D) Percentil/IMCEdad (* p < 0.0001), (E) Z-score/IMC (* p < 0.0001). Nótese el incremento sobre la talla, el peso, el IMC; así como en el percentil IMC/Edad y sobre el z-score/IMC.

En los parámetros bioquímico-clínicos estudiados, los resultados indicaron, que el grupo de niños obesos tuvieron un aumento estadísticamente significativo en las concentraciones de glucosa, triglicéridos, HDL y PCR-ultrasensible en comparación con los niños del grupo control (*Tabla 2*).

Variable n = 100	Control n = 50		Obesos n = 50
	Mediana	Mediana	Valor de P
Glucosa (mgs / dL)	85	94	p < 0.0001
Colesterol (mgs / dL)	149	150.5	p < 0.482
Triglicéridos (mgs / dL)	80	86	p < 0.15
HDL (mgs / dL)	45.6	39.7	p < 0.039
LDL (mgs / dL)	85.65	92.2	p < 0.22
Proteína C Reactiva (mgs / dL)	0	0.66	p < 0.0001
Ácido úrico (mgs / dL)	4.1	4.3	p < 0.23

Tabla 2. Distribución de los datos bioquímico-clínico de los grupos de estudio.

Cuando a los parámetros bioquímicos estudiados se aplicó la prueba estadística U de Mann-Whitney, la glucosa mostro diferencias significativas (p <0.0001) en los niños obesos (*Me* = 94 mg / dL) en comparación con los niños de control (*Me* = 85 mg / dL). Los triglicéridos mostraron diferencias estadísticas (p <0.0482), en los niños obesos (*Me* = 86 mg / dL) en comparación con los niños control (*Me* = 80 mg / dL). Con respecto las concentraciones de HDL de los niños obesos mostraron diferencias estadísticas (p <0.039), (*Me* = 39.7 mg / dL) en comparación con los niños de control (*Me* = 45.64 mg / dL). Por último, la proteína C reactiva en niños obesos mostró diferencias estadísticamente significativas (p <0.0001), (*Me* = 0.66 mg / dL) en comparación con los niños de control (*Me* = 0.0 mg / dL). El resto de los marcadores bioquímicos clínicos, no presentaron diferencias significativas en este estudio. (*Figura 9*).

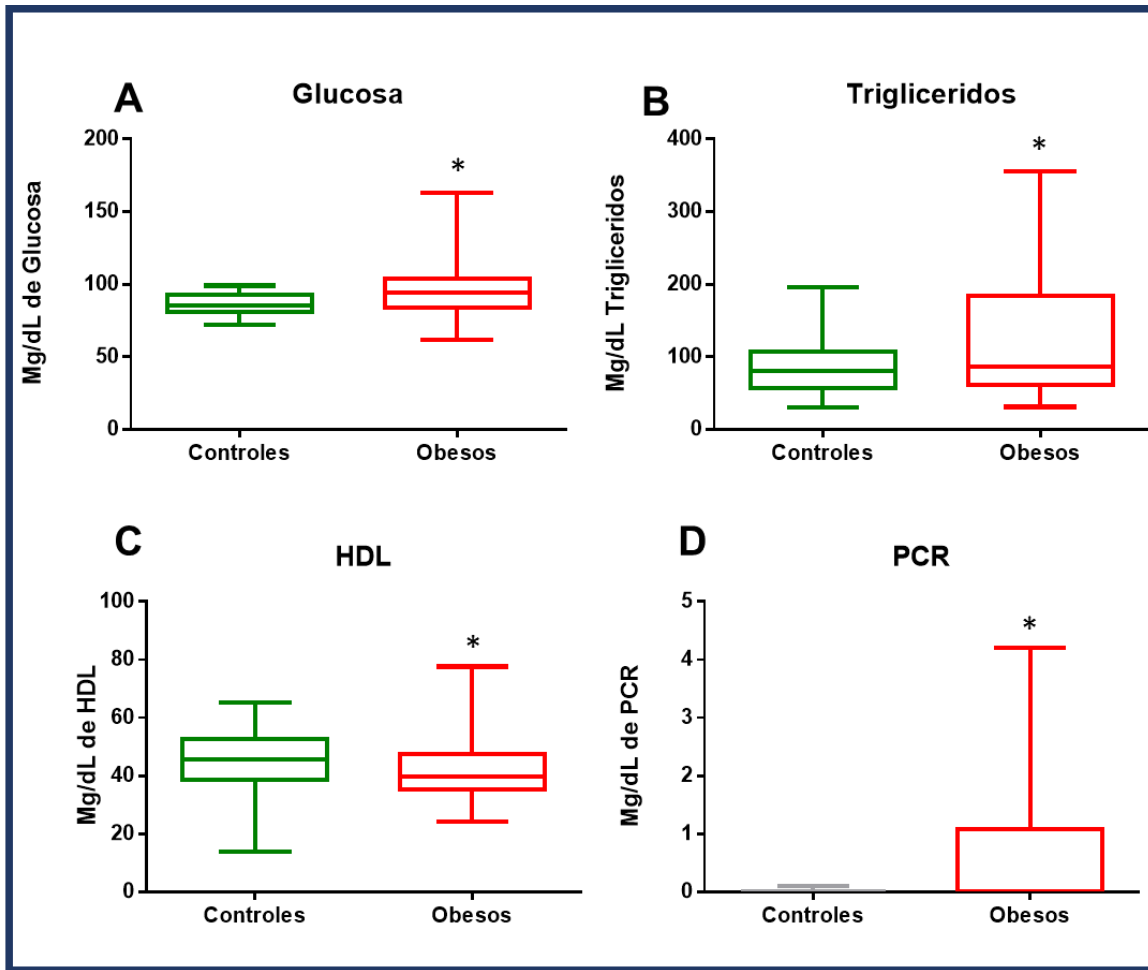


Figura 9. Efecto de la Obesidad en niños de 3 a 5 años sobre los parámetros bioquímico-clínico (n = 50 por grupo), grafica (A) Glucosa (* p < 0.001), (B) Triglicéridos (* p < 0.482), (C) HDL (* p < 0.039), (D) PCR (* p < 0.0001). Nótese el incremento sobre la glucosa, los triglicéridos, la proteína C reactiva, así como una disminución en las HDL.

En los marcadores de estrés oxidativo estudiados, los niños obesos presentaron un incremento en las concentraciones séricas de LPO, proteínas oxidadas, glutatión oxidado y LDL-ox, así como una disminución en el glutatión reducido comparado con los niños del grupo control. (Tabla 3)

Variable n = 100	Control n = 50	Obesos n = 50	
	Mediana	Mediana	Valor de P
Glutación Total (ng / mL)	5.82	6.29	p < 0.0001
Concentración GPx3 (ng / mL)	56.5	63	p < 0.69
Actividad enzimática GPx3 (U / mL)	0.037	0.32	p < 0.002
Concentración SOD Cu/Zn (ng/ mL)	0.71	0.73	p < 0.36
Actividad enzimática SOD Cu/Zn (U / mL)	9.71	9.81	p < 0.59
Concentración Catalasa (U/ mL)	45.88	22.92	p < 0.0001
Concentración HO-1 (ng/ mL)	3.78	9.41	p < 0.0001

Tabla 3. Distribución de los marcadores de estrés oxidativo de los grupos de estudio.

Los niños obesos ($Me = 5.9$ nmol / mg de proteína) presentaron una mayor concentración de LPO comparado con los niños control ($Me = 4.2$ nmol / mg de proteína), mostrando diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$), utilizando la prueba U de Mann-Whitney. Los resultados además mostraron, que las concentraciones de proteínas oxidadas de los niños obesos ($Me = 1.2$ nmol / mg de proteína) presentaron un incremento significativo cuando se compararon con los niños control ($Me = 0.17$ nmol / mg de proteína), ($p < 0,0001$). El glutati6n oxidado present6 un incremento, en el grupo de ni6os obesos ($Me = 4.4$ nmol / mg de prote6na), cuando fue comparado con el grupo de ni6os control ($Me = 3.2$ nmol / mg de prote6na) mostrando diferencias estad6sticamente significativas ($p < 0,0003$), utilizando la prueba U de Mann-Whitney. Por otro lado, Las LDL-ox, que presentaron, los ni6os obesos ($Me = 9.1$ ug / mL) mostraron un aumento estad6sticamente significativo ($p < 0,002$) comparado con los ni6os control ($Me = 6.2$ ug / mL). El glutati6n reducido presento una disminuci6n estad6sticamente significativa ($p < 0,0003$) en los ni6os obesos ($Me = 0.98$ nmol / mg de prote6na) al ser comparado con los ni6os del grupo control ($Me = 2.1$ nmol / mg de prote6na) (Figura 10).

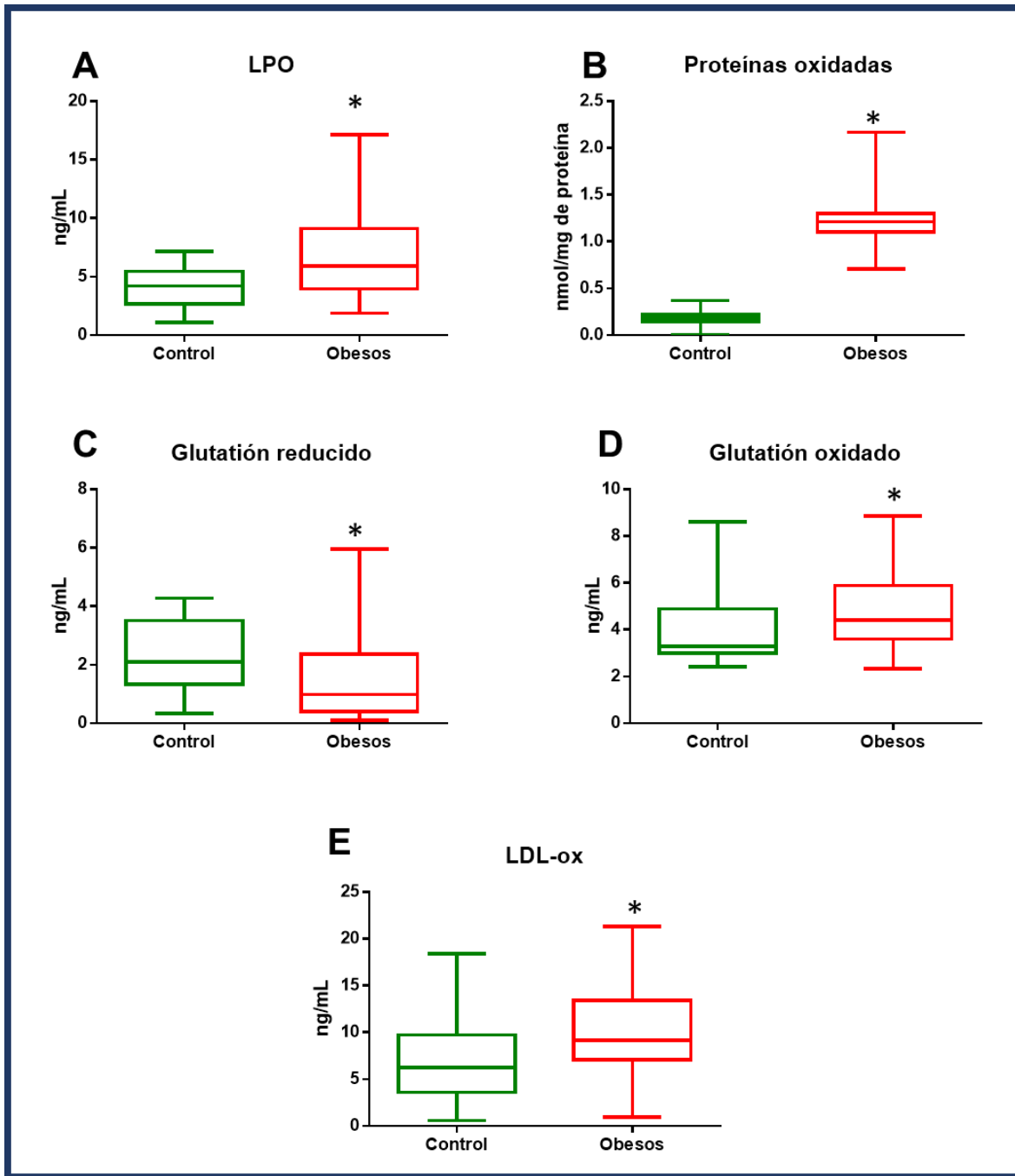


Figura 10. Efecto de la Obesidad en niños de 3 a 5 años sobre marcadores de estrés oxidativo (n = 50 por grupo), grafica (A) LPO (* p < 0.0001), (B) proteínas oxidadas (* p < 0.0001), (C) Glutación reducido (* p < 0.0003), (D) Glutación oxidado (* p < 0.006), (E) LDL-ox (* p < 0.002). Nótese el incremento en los LPO, proteínas oxidadas, glutación oxidado y LDL-ox y una disminución en el glutación reducido.

Los resultados obtenidos en la cuantificación de sistemas antioxidantes en los niños obesos reportaron un incremento en el glutatión total, en las concentraciones de SOD Cu/Zn y en la HO-1, así como una disminución en la actividad enzimática de GPx3 y en las concentraciones de catalasa; el resto de los antioxidantes no presentaron diferencias. (Tabla 4).

Variable n = 100	Control n = 50		Valor de P
	Mediana	Mediana	
Glutatión Total (ng / mL)	5.82	6.29	p < 0.0001
Concentración GPx3 (ng / mL)	56.5	63	p < 0.69
Actividad enzimática GPx3 (U / mL)	0.037	0.32	p < 0.002
Concentración SOD Cu/Zn (ng/ mL)	0.71	0.73	p < 0.36
Actividad enzimática SOD Cu/Zn (U / mL)	9.71	9.81	p < 0.59
Concentración Catalasa (U/ mL)	45.88	22.92	p < 0.0001
Concentración HO-1 (ng/ mL)	3.78	9.41	p < 0.0001

Tabla 4. Distribución de los sistemas antioxidantes de los grupos de estudio.

Cuando se realizó la prueba estadística U de Mann-Whitney a los parámetros estudiados; el glutatión total en los niños obesos mostró diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.0001$), ($Me = 6.29$ ng / mL) en comparación con los niños del grupo control ($Me = 5.82$ ng / mL). En relación a las concentraciones de HO-1 mostraron un aumento estadísticamente significativo ($p < 0,0001$) en los niños obesos ($Me = 9.41$ ng / mL) cuando se compararon con los niños control ($Me = 3.78$ ng / mL). Por otra parte, la actividad de la enzima GPx3 presentó una disminución estadísticamente significativa ($p < 0,0024$) en los niños obesos ($Me = 0.32$ U / mL) al ser comparado con los niños del grupo control ($Me = 0.037$ U / mL). Finalmente, al realizar la prueba estadística U de Mann-Whitney sobre las concentraciones de catalasa de los niños obesos ($Me = 22.92$ ng / mL) esta mostró diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$) cuando se compararon con

los niños control ($Me = 45.88 \text{ ng / mL}$) el resto de los antioxidantes estudiados no presentaron diferencias estadísticamente significativas en este estudio (Figura 11).

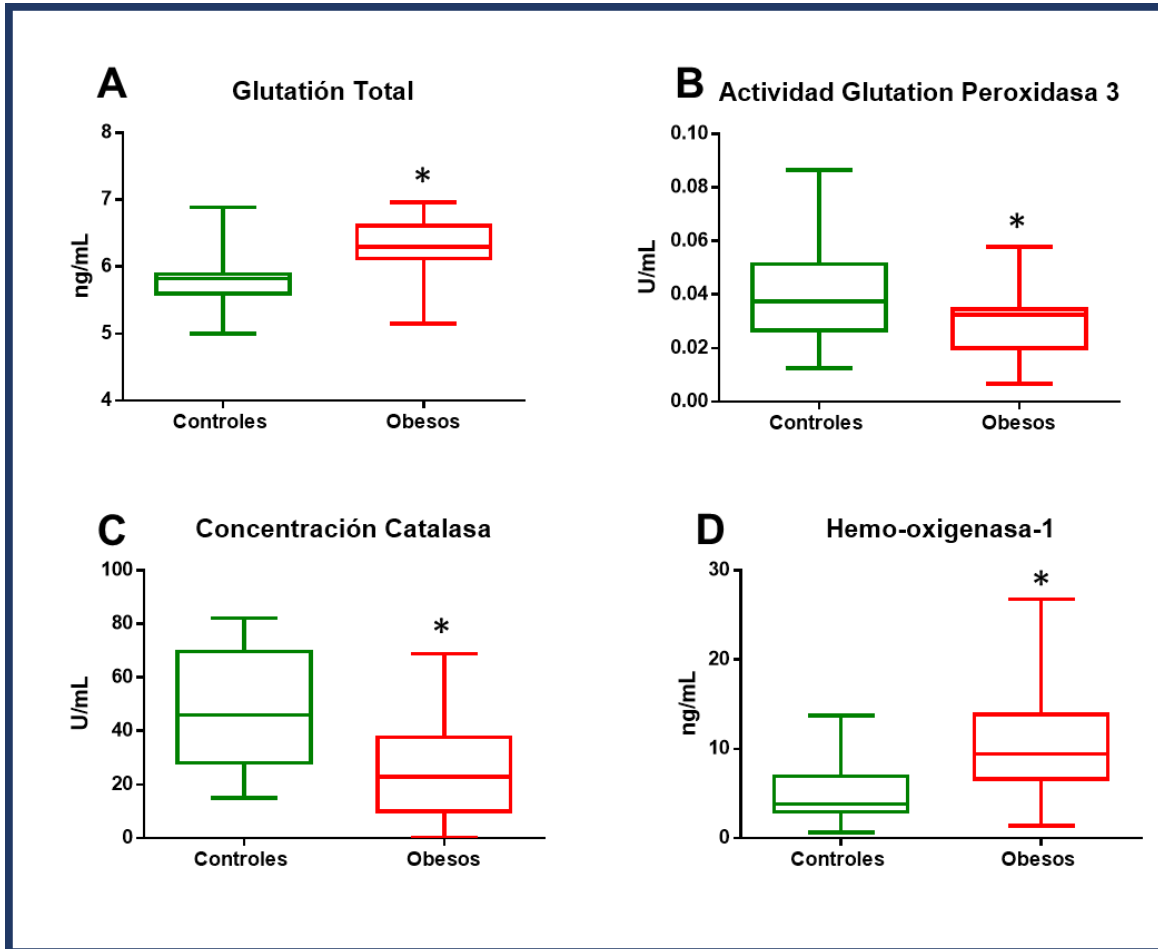


Figura 11. Efecto de la Obesidad en niños de 3 a 5 años sobre los antioxidantes estudiados ($n = 50$ por grupo), grafica (A) glutatión total (* $p < 0.0001$), (B) actividad enzimática GPx3 (* $p < 0.0024$), (C) concentración sérica Catalasa (* $p < 0.0001$), (D) concentración de HO-1 (* $p < 0.0001$). Nótese el incremento en el glutatión total y en la HO-1 así como una disminución sobre la actividad enzimática GPx3 y en las concentraciones de catalasa.

Los resultados indicaron que el grupo de niños obesos presentó un incremento estadísticamente significativo en la insulina, así como en los modelos indirectos de diagnóstico para resistencia a la insulina HOMA-IR, HOMA-%B, HOMA-%S, índice TG/HDL, índice TG/G así como en el índice de Quicki en comparación con el grupo control (*Tabla 5*).

Variable n = 100	Control n = 50	Obesos n = 50	Valor de P
	Mediana	Mediana	
Insulina (μUI / mL)	6.6	7.6	p < 0.0001
HOMA-IR	0.88	0.94	p < 0.014
HOMA -%B	82.4	107.3	p < 0.0001
HOMA -%S	112.8	106.3	p < 0.019
Indice TG/HDL	1.3	3.1	p < 0.0001
Indice TG/G	3.36	4.39	p < 0.042
Indice Quicki	0.99	1.05	p < 0.0001

Tabla 5. Distribución de los datos de la insulina y de los modelos indirectos de diagnóstico para resistencia a la insulina de los grupos de estudio.

Las concentraciones de insulina de los niños obesos ($Me = 7.6 \mu$ UI / mL) mostraron un incremento estadísticamente significativo (p < 0,0001) al ser comparado con los niños control ($Me = 6.6 \mu$ UI / mL). Cuando se calculó el índice de HOMA-IR, este presentó un incremento en los niños obesos ($Me = 0.94$) cuando fue comparado con los niños control ($Me = 0.88$), mostrando diferencias estadísticamente significativas (p < 0.014), utilizando la prueba U de Mann-Whitney. Además, se evaluó el índice HOMA-%B, el cual mostro un aumento estadísticamente significativo (p < 0,0001) en los niños obesos ($Me = 107.3$) comparado con los niños del grupo control ($Me = 82.4$). también, se calculó el índice de HOMA-%S, el cual presento una disminución estadísticamente significativa (p < 0.019) entre el grupo de niños obesos ($Me = 106.3$) y el grupo de niños control ($Me = 112.8$), (*Figura 12*); además se calculó el índice TG/HDL el cuál mostró que los niños obesos ($Me = 3.1$) presentaron diferencias estadísticamente significativas (p < 0,0001) al ser comparado con los niños control ($Me = 1.3$). El índice TG/Glucosa utilizando la prueba U de Mann-Whitney reportó diferencias estadísticamente significativas (p < 0.017) entre los niños control ($Me = 3.36$) y de los niños obesos ($Me = 4.39$)

finalmente se calculó el índice de QUICKI el cuál reportó diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.042$) entre los niños control ($Me = 0.99$) y los niños obesos ($Me = 1.05$) (Figura 13).

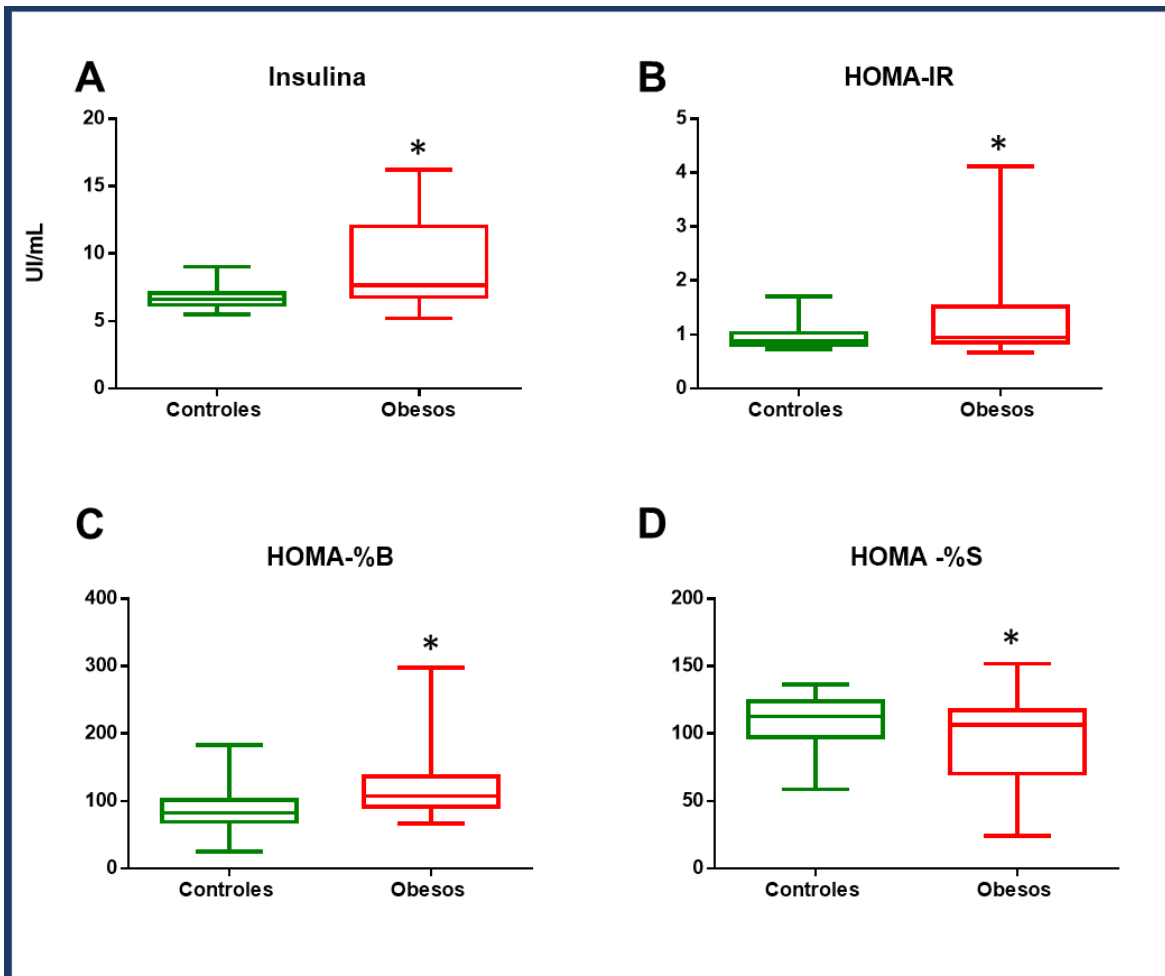


Figura 12. Efecto de la Obesidad en niños de 3 a 5 años en la insulina e índice de HOMA ($n = 50$ por grupo), grafica (A) insulina (* $p < 0.0001$), (B) índice HOMA-IR (* $p < 0.014$), (C) índice HOMA-%B (* $p < 0.0001$), (D) índice HOMA-%S (* $p < 0.019$). Nótese el incremento sobre la insulina el índice HOMA-IR y el HOMA-%B, así como una disminución sobre el índice HOMA-%S.

Posteriormente, se realizó el cálculo del coeficiente de correlación de Spearman, con los resultados de LPO, la HO-1, la insulina, los índices de HOMA-IR, HOMA %B, HOMA%S respectivamente. Al realizar la correlación entre LPO y la HO-1 esta presentó una correlación lineal $r_s = 0.96$ ($p < 0.001$); posteriormente se procedió al cálculo de la correlación entre LPO e insulina, la cual presentó una correlación lineal con una $r_s = 0.83$ ($p < 0.001$); además se realizó la correlación de

LPO e índice de HOMA-IR, presentando una correlación lineal con una $r_s = 0.86$ ($p < 0.001$); al comparar los LPO entre el índice de HOMA-%B este presentó una correlación lineal con una $r_s = 0.97$ ($p < 0.001$). También se calculó la correlación entre los LPO y el índice de HOMA-%S las cuales mostraron una $r_s = 0.67$ ($p < 0.001$). Por último, se realizó la correlación entre LDL-ox e insulina, la cual mostró una $r_s = 0.94$ ($p < 0.001$) (Figura 14).

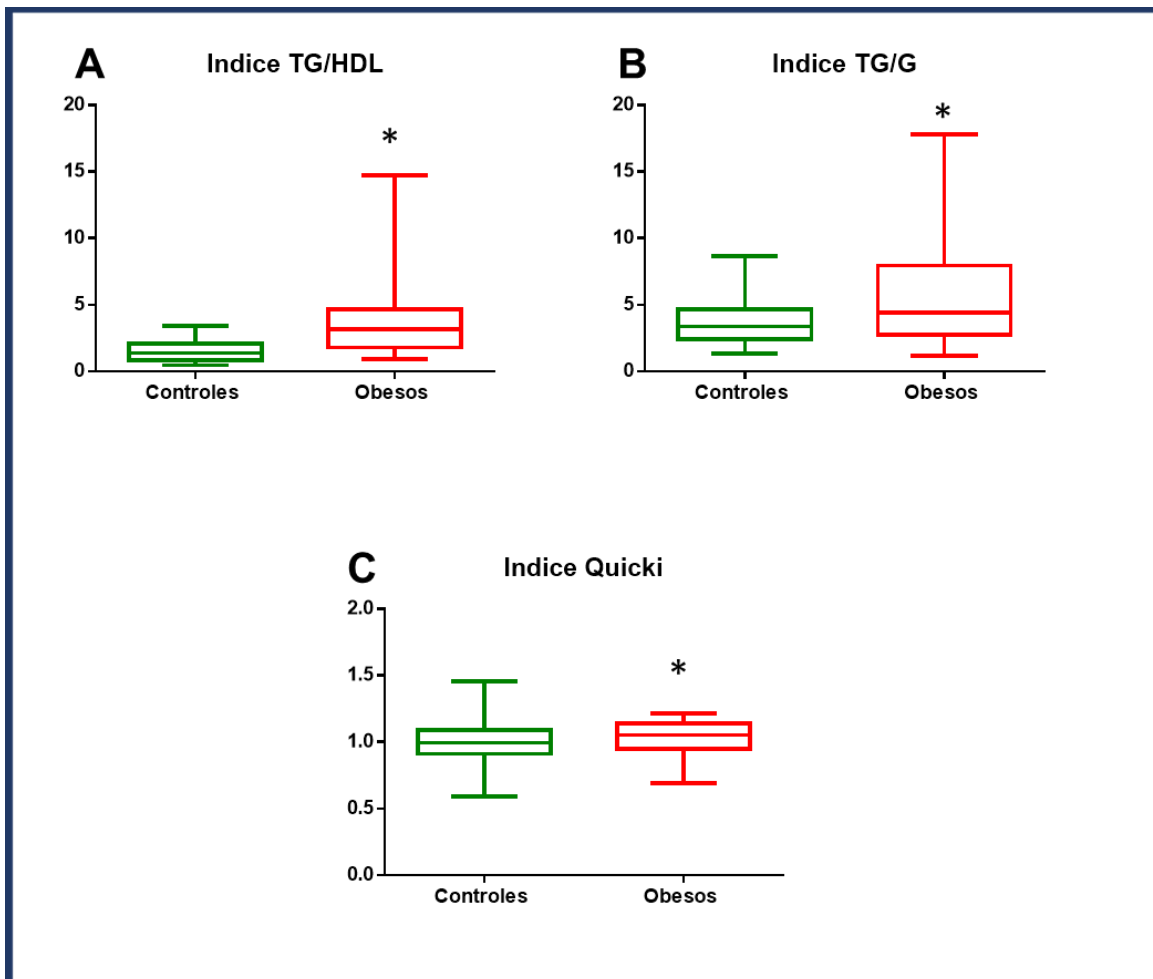


Figura 13. Efecto de la Obesidad en niños de 3 a 5 años sobre los métodos indirectos de diagnóstico para resistencia a la insulina (n = 50 por grupo), grafica (A) índice TG/HDL (* $p < 0.0001$), (B) índice TG/G (* $p < 0.017$), (C) índice QUICKI (* $p < 0.042$). Nótese el incremento en los índices TG/HDL, TG/G y QUICKI.

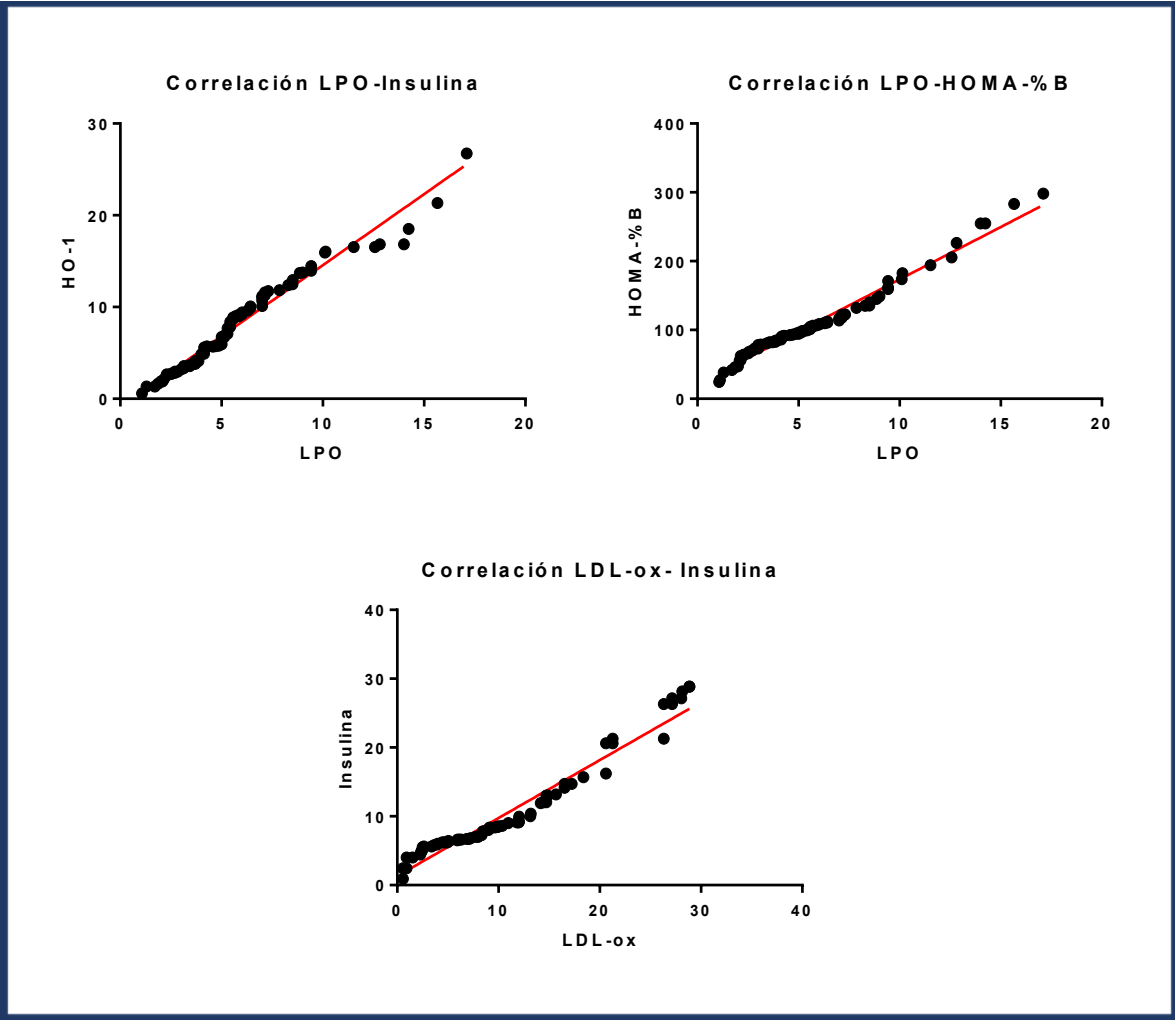


Figura 14. Correlación de los marcadores de estrés oxidativo en niños obesos. A) Correlación entre LPO y HO-1 ($R_s=0.96$); B) LPO contra HOMA-%B ($R_s=0.97$) y LDL-ox vs concentración de insulina ($R_s= 0.94$).

DISCUSIÓN

De acuerdo con los datos reportados en este estudio, así como los reportados por Bocca et al., en 2013, el cual fue realizado en una población de niños holandeses en etapa preescolar se demuestra que, sin importar la etnia, la edad de 3 a 5 años, es la etapa inicial para el desarrollo de complicaciones asociadas a la obesidad (Bocca et al., 2013); ya que, durante esta etapa del crecimiento se lleva a cabo la programación del tamaño de las células adiposas que se tendrán a lo largo de la vida. Dicha programación, puede verse afectada en el caso de que el niño en edad preescolar aumente más de 2 kg por año, lo que provocará que las células adiposas presenten mayor tendencia a la hipertrofia, así como a la hiperplasia. Este incremento y cambio de morfología del adipocito, promoverá que los niños preescolares obesos presenten gran dificultad para mantener un peso estable en etapas posteriores de la vida (Rolland-Cachera et al., 2006).

Los resultados de este estudio muestran que los niños en edad preescolar obesos, presentan alteraciones metabólicas, inflamatorias así como un desbalance entre ROS y sistemas antioxidantes, lo que está condicionando un estado de estrés oxidativo, así como el desarrollo insipiente de resistencia a la insulina en etapas muy tempranas de la vida, como lo demuestran el incremento en las concentraciones de glucosa, perfil de lípidos (triglicéridos, y LDL), PCR, en los marcadores de estrés oxidativo (LPO, proteínas oxidadas, glutatión oxidado, LDL-ox), así como en la disminución en los antioxidantes (glutatión reducido, actividad GPx3, concentración de la catalasa); y si a esto se asocia que las concentraciones de insulina, índice de HOMA-IR, HOMA -%B, índice TG/HDL, índice TG/G e índice de Quicki, presentaron un incremento al ser comparados con niños eutróficos de la misma población; estos cambios pueden ser el inicio para padecer enfermedades crónicas degenerativas en la etapa escolar y durante la adolescencia, como lo demuestran múltiples estudios en diferentes poblaciones del mundo.

La glucosa sérica de los niños obesos preescolares presento diferencias estadísticamente significativas, datos similares a los publicados por Baughcum et al., 2014, Bocca et al., 2013 y Lo et al., 2014 en el mismo grupo de edad, sin embargo, estos trabajos no realizan la comparación de sus datos con un grupo control, la cual es muy importante ya que, no existen parámetros de normalidad para niños de 3 a 5 años de ninguna etnia.

Por otro lado, el incremento en la glucosa de los niños obesos se puede deber al inicio en el consumo de jugos embotellados, bebidas endulzadas y carbonatadas, adicionadas con jarabe de maíz de alta fructuosa; este inicio en el consumo, es alrededor de los 3.2 años de edad en la población mexicana (Pérez-Morales 2012 et., al). Este consumo incrementa el aporte de calorías requeridas por el niño (desbalance entre ingesta y gasto energético) lo que da como consecuencia una elevación en el peso corporal y sobre el IMC.

Con respecto a los triglicéridos, estas concentraciones fueron más elevadas en los niños obesos en comparación con los niños control y las HDL-C se observan disminuidas. Si se continúa con esta modificación metabólica de los lípidos se estimulará una disfunción adipocitaria, lo que provocará una acumulación de ácidos grasos en el músculo (intramiocelular), dando como consecuencia resistencia a la insulina. Sin embargo, si a éste fenómeno se presenta en edades tempranas de la vida el efecto de éste será más severo (Klop et al., 2013).

Otro de los marcadores alterados en la química clínica es el incremento en las concentraciones séricas de PCR ultrasensible de los niños obesos al ser comparados con el grupo control. Este dato reviste su importancia debido a que la PCR es una proteína de respuesta inflamatoria de fase aguda, la cual aparece tras existir un desequilibrio en el sistema inmune innato. Por anterior se utiliza como marcador inflamatorio, la cual se encuentra regulada por factores transcripcionales de la IL-6 secretada directamente por el adipocito (Haro-Acosta et al., 2014; Huh et al., 2014; Nienaber-Rousseau et al., 2014;). Otra acción que puede incidir de forma

directa sobre las concentraciones de la PCR, se relaciona con el tipo de dieta que se consume, esto es, que una dieta alta en edulcorantes, endulzantes semi-sintéticos, grasas saturadas elevaran sus concentraciones plasmáticas en pacientes obesos de cualquier edad; sin embargo, si se modifica el estilo de vida y se incrementa el consumo de frutas, vegetales, derivados bio-activos de la leche y dieta alta en antioxidantes, las concentraciones de PCR disminuirán independientemente del IMC (Pennacchiotti et al., 2012; Nienaber-Rousseau et al., 2014; Nanri et al., 2007; Zhou et al., 2015).

Uno de los primeros cambios descritos y que se encuentra ampliamente aceptado es que la obesidad en la adultez cursa con estados de estrés oxidativo, el cual se caracteriza por un incremento en las concentraciones de LPO, proteínas oxidadas, LDL-ox, así como en el glutatión oxidado y una disminución del glutatión reducido (Netzer et al., 2105), efecto observado en niños de 3 a 5 años con obesidad, con lo cual se podría sugerir que desde la etapa preescolar ya se comienzan a observar alteraciones en la homeostasis redox, la cual puede condicionar alteraciones en otras etapas de la vida.

Esta alteración en la homeostasis redox, juega un papel fundamental en el tejido adiposo, debido a que el adipocito es una célula altamente susceptible a los cambios en el balance de óxido-reducción. Uno de los primeros cambios descritos en la literatura que tienen las ROS sobre el adipocito es su capacidad de suspender o disminuir la tasa de proliferación e incrementando la diferenciación, esto se debe a la estimulación del H_2O_2 sobre la adipogénesis por mecanismos ya descritos en párrafos anteriores (Rani et al., 2016). De acuerdo con lo anterior, una de las primeras modificaciones que se observan es que se aumenta el tamaño de los adipocitos, produciendo una disminución en el riego sanguíneo del tejido, induciendo así la hipoxia, y esto lleva posteriormente a causar un aumento en las concentraciones de ROS (Han et al., 2016).

Los resultados reportados en este estudio sobre la determinación de los sistemas antioxidantes en los niños de 3 a 5 años obesos, mostraron una disminución en la actividad enzimática de la GPx3, y de las concentraciones de Catalasa. Sin embargo, el glutatión total, presentó un incremento al ser comparado con el grupo control, datos similares a los reportados por Albuali et al., 2014, el cual realizó un estudio en niños de 6 a 12 años con sobrepeso y obesidad.

La disminución en la actividad enzimática GPx3 observada en este estudio, se puede atribuir a la alta producción de ROS, las cuales destruyen a las defensas antioxidantes (Woo et al., 2011). En el caso del incremento del GSH se debe a la rápida conversión a su forma oxidada, a través de la enzima glutatión reductasa, para así catalizar la reducción de glutatión oxidado a reducido, el cuál será utilizado por la GPx para destruir ROS (Albuali et al., 2014).

En el caso, de la SOD Cu/Zn esta intenta compensar el daño oxidante provocado por la formación de peroxinitritos generado por la hipertrofia adiposa, la cual de no corregirse disminuirá la actividad de la SOD Cu/Zn (Fernández et al., 2014), que en el caso de los niños de este estudio no presentaron diferencias, lo que puede deberse a que los niños obesos aún están iniciando el padecimiento y en poco tiempo podrán desarrollar mayor daño, ya que existe suficiente evidencia científica que determina que la obesidad conlleva a la disminución de la actividad y de la expresión de la SOD Cu/Zn (Codoner-Franch et al., 2009).

La concentración de catalasa en los niños obesos, muestra una disminución estadísticamente significativa, datos similares a los reportados por Fernández et al., 2014 en una población de adultos diabéticos, lo que se puede explicar a que esta enzima está implicada en el balance redox celular del adipocito por mecanismo no esclarecidos aún.

Otro mecanismo que provoca el incremento en las ROS provocara que el factor nuclear de transcripción Nrf2 se transloque al núcleo, activando la vía fosfoinositol 3-quinasa (PI3K), incrementando la expresión génica de la HO-1 (He, G 2016). Esto trae como consecuencia un aumento en la síntesis de esta enzima y de esta forma presente funciones importantes sobre la cascada de señalización a insulina (Jais et al., 2014). Otra función descrita que presenta la HO-1, es su capacidad antiinflamatoria, la cual está relacionada con la polarización de los macrófagos M1 a M2 residentes en el tejido adiposo (Jais et al., 2014). Con base en estas funciones, Jais A. et al en 2014, propone a la HO-1 como un biomarcador de obesidad metabólicamente sana o enferma (Bao et al., 2010; Bao et al., 2012; Habich et al., 2015).

Por otro lado, la insulina sérica reportada en este estudio, muestra un incremento en los niños obesos, dato similar al reportado por LO J et al., 2014, en niños estadounidenses; demostrando así, que los niños obesos desde los 3 a 5 años ya reportan alteraciones metabólicas. Además, los resultados sobre el índice HOMA-IR, HOMA-%B, mostraron un incremento en los niños obesos y en relación al HOMA-%S presentó una disminución sobre este mismo grupo, estos datos se pueden interpretar como un estado incipiente de resistencia a la insulina; ya que la secreción de esta hormona, presenta una pobre señalización en órganos blanco. Estos datos, son ampliamente aceptados para hacer el diagnóstico de resistencia a la insulina en adultos, aunque en pediatría hasta la fecha no se encuentra validado para el diagnóstico en este rango de edad (Olivares et al., 2008; Sherwood et al., 2015).

Es importante considerar, que la resistencia a la insulina, es el factor desencadenante para desarrollar síndrome metabólico (Lo et al., 2013; Bocca et al., 2013) en cualquier etapa de la vida, motivo por el cual sería importante llevar a cabo más estudios para determinar si la obesidad desde la etapa preescolar es uno de los factores de inicio de la resistencia a la insulina en el adulto (Sherwood et al., 2015).

Además en los resultados de las correlaciones de los LPO y la HO-1, esta mostró una correlación lineal positiva, pudiéndose interpretar, que a mayor cantidad de LPO mayor secreción de HO-1; este hecho se podría explicar, a que la HO-1 está contrarrestando el incremento, tanto de ROS como de citocinas proinflamatorias provenientes de la hipertrofia de las células adiposas (Bao et al., 2010; Bao et al., 2012); sin embargo, no hemos encontrado reportes donde se demuestre que esta enzima no solo incremente sus concentraciones, sino que también mantenga su actividad enzimática en pacientes con obesidad, motivo por el cual se requieren más estudios para poder esclarecer este punto.

La correlación entre los LPO e índice de HOMA-%B, muestra una correlación lineal positiva, esto podría interpretarse, como una alteración en la regulación de la respuesta a la insulina en la célula beta pancreática. Esta disfunción puede estar provocada, ya que los LPO forman subproductos HNE y HHE con mayor capacidad oxidante, causando disfunción en las células beta pancreáticas (Pillon et al., 2011). Además, se encuentra ampliamente aceptado que los radicales libres provocan un incremento en la fosforilación del factor NF-kB, en la célula beta, lo cual estimula la transcripción nuclear y posterior activación de citocinas proinflamatorias, produciendo un mal funcionamiento de esta célula (Aroor et al., 2014).

Al realizar la correlación entre LPO y las LDL-ox, estas muestran una correlación lineal positiva, dicha relación podría deberse a que las LDL se oxidan con mayor rapidez, ya que el peróxido de hidrogeno interactúa con los aldehídos y los residuos de lisina de la apolipoproteína B-100, provocando así que las LDL se oxiden más fácilmente y además que presenten una mayor capacidad oxidante (Holvoet et al., 1998; Suzuki et al., 2010).

También fue estudiada la correlación LDL-ox e insulina, la cual mostró una correlación lineal positiva, esto podría deberse a que el estrés oxidativo es el responsable de la modificación de las LDL-ox. El incremento en estas LDL-ox provoca alteraciones en las células beta pancreáticas, induciendo un incremento en

la respuesta de la célula beta a las concentraciones de glucosa en sangre (Linna et al., 2015).

CONCLUSIONES

Se puede concluir con base en los resultados de este estudio que la obesidad en niños de 3 a 5 años, esta acompañada de un incremento en las concentraciones séricas de glucosa, triglicéridos y PCR. Estos cambios en la bioquímica-clínica de los niños preescolares obesos demuestra que la obesidad en etapas tempranas de la vida, ya causa alteraciones metabólicas las cuales, si no son corregidas con cambios en el estilo de vida, se podrán desarrollar enfermedades crónico-degenerativas en diferentes etapas de crecimiento del niño. Motivo por el cual es necesario realizar de forma temprana la evaluación antropométrica y bioquímica de todos los niños obesos en edad preescolar que acuden a consulta de control de niño sano en el primer nivel de atención, así como por el médico pediatra.

También podemos concluir que, con base en el incremento de los marcadores de estrés oxidativo y asociado a la disminución de los antioxidantes en los niños obesos preescolares, el estrés oxidativo es un factor importante durante el desarrollo de las alteraciones metabólicas.

Dentro de las alteraciones metabólicas que de forma incipiente ya están desarrollando los niños de 3 a 5 años obesos, es la resistencia a la insulina, la que presenta cambios no solo en las concentraciones séricas, sino en los cálculos por métodos indirectos para el diagnóstico de resistencia a la insulina. Con lo cual es importante que se genere más información para poder tener parámetros de normalidad en este rango de edad.

Finalmente, con los datos del presente estudio, se concluye que la obesidad en niños de 3 a 5 años es una etapa clave para la realización de una intervención higiénico dietética para así evitar el desarrollo de complicaciones asociadas a la obesidad, debido a que esta edad es el momento durante el cual se distribuye y programa el tejido adiposo que se tendrá a lo largo de la vida.

BIBLIOGRAFIA

1. Abderrazak, A., Syrovets, T., Couchie, D., El Hadri, K., Friguet, B., Simmet, T., & Rouis, M. (2015). NLRP3 inflammasome: From a danger signal sensor to a regulatory node of oxidative stress and inflammatory diseases. *Redox Biology*, 4, 296-307. <http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2015.01.008>.
2. Abraham, N., Junge, J., & Drummond, G. (2016). Translational Significance of Heme Oxygenase in Obesity and Metabolic Syndrome. *Trends In Pharmacological Sciences*, 37(1), 17-36. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tips.2015.09.003>.
3. Aebi, H. (1984). [13] Catalase in vitro. *Methods In Enzymology*, 121-126. [http://dx.doi.org/10.1016/s0076-6879\(84\)05016-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05016-3).
4. Albuali, W. (2014). Evaluation of oxidant-antioxidant status in overweight and morbidly obese Saudi children. *World Journal Of Clinical Pediatrics*, 3(1), 6. <http://dx.doi.org/10.5409/wjcp.v3.i1.6>.
5. Araujo, J., Zhang, M., & Yin, F. (2012). Heme Oxygenase-1, Oxidation, Inflammation, and Atherosclerosis. *Frontiers In Pharmacology*, 3. <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2012.00119>.
6. Aroor, A. & DeMarco, V. (2014). Oxidative Stress and Obesity: The Chicken or the Egg?. *Diabetes*, 63(7), 2216-2218. <http://dx.doi.org/10.2337/db14-0424>.
7. Asakawa, T. & Matsushita, S. (1979). Thiobarbituric acid test for detecting lipid peroxides. *Lipids*, 14(4), 401-406. <http://dx.doi.org/10.1007/bf02533425>.

8. Bao, W., Rong, S., Zhang, M., Yu, X., Zhao, Y., & Xiao, X. et al. (2012). Plasma Heme Oxygenase-1 Concentration in Relation to Impaired Glucose Regulation in a Non-Diabetic Chinese Population. *Plos ONE*, 7(3), e32223. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0032223>.
9. Bao, W., Song, F., Li, X., Rong, S., Yang, W., & Zhang, M. et al. (2010). Plasma Heme Oxygenase-1 Concentration Is Elevated in Individuals with Type 2 Diabetes Mellitus. *Plos ONE*, 5(8), e12371. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0012371>.
10. Baughcum, A., Gramling, K., & Eneli, I. (2014). Severely Obese Preschoolers in a Tertiary Care Obesity Program: Characteristics and Management. *Clinical Pediatrics*, 54(4), 346-352. <http://dx.doi.org/10.1177/0009922814555975>.
11. Bocca, G., Corpeleijn, E., Stolk, R., Wolffenbuttel, B., & Sauer, P. (2013). Effect of obesity intervention programs on adipokines, insulin resistance, lipid profile, and low-grade inflammation in 3- to 5-y-old children. *Pediatric Research*, 75(2), 352-357. <http://dx.doi.org/10.1038/pr.2013.216>.
12. Bocca, G., Ongering, E., Stolk, R., & Sauer, P. (2013). Insulin Resistance and Cardiovascular Risk Factors in 3- to 5-Year-Old Overweight or Obese Children. *Horm Res Paediatr*, 80(3), 201-206. <http://dx.doi.org/10.1159/000354662>.
13. Boyne, A. & Ellman, G. (1972). Assay Glutathione. *Analytical Biochemistry*, 46(2), 639-653. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697\(72\)90335-1](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(72)90335-1).
14. Burgess, A., Li, M., Vanella, L., Kim, D., Rezzani, R., & Rodella, L. et al. (2010). Adipocyte Heme Oxygenase-1 Induction Attenuates Metabolic

- Syndrome in Both Male and Female Obese Mice. *Hypertension*, 56(6), 1124-1130. <http://dx.doi.org/10.1161/hypertensionaha.110.151423>.
15. Calderón Salinas, J., Muñoz Reyes, E., & Quintanar Escorza, M. (2013). Estrés Oxidativo y Diabetes Mellitus. *Revista De Educación Bioquímica*, 32(2), 53-66.
 16. Camps, D., Ruffino, S., Majaul, E., & Joisin, A. (2009). *Bioquímica Del Estrés Oxidativo*. Argentina: Camps Diego.
 17. Carmona-Montesinos, E., Ruiz-Fragoso, Z., Ponce Hinojosa, G., & Rivas-Arancibia, S. (2015). Changes In C-Reactive Protein And Biochemical Profile In Preschool Children With Obesity. *Nutrición Hospitalaria*, 32(4), 1548-1553. <http://dx.doi.org/10.3305/nh.2015.32.4.9569>.
 18. Carmona-Montesinos, E., Velazquez-Perez, R., Pichardo Aguirre, E., & Rivas-Arancibia, S. (2016). Obesity, Oxidative Stress, and Their Effect on Serum Heme Oxygenase-1 Concentrations and Insulin in Children Aged 3 to 5 Years in a Pediatric Hospital of the Ministry of Health CDMX. *Childhood Obesity*. <http://dx.doi.org/10.1089/chi.2016.0155>.
 19. Codoner-Franch, P., Boix-Garcia, L., Simo-Jorda, R., Del Castillo-Villaescusa, C., Maset-Maldonado, J., & Valls-Belles, V. (2009). Is obesity associated with oxidative stress in children?. *International Journal Of Pediatric Obesity*, 1-8. <http://dx.doi.org/10.1080/17477160903055945>.
 20. Codoñer-Franch, P., Valls-Bellés, V., Arilla-Codoñer, A., & Alonso-Iglesias, E. (2011). Oxidant mechanisms in childhood obesity: the link between inflammation and oxidative stress. *Translational Research*, 158(6), 369-384. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trsl.2011.08.004>.

21. Dalle-Donne, I., Giustarini, D., Colombo, R., Rossi, R., & Milzani, A. (2003). Protein carbonylation in human diseases. *Trends In Molecular Medicine*, 9(4), 169-176. [http://dx.doi.org/10.1016/s1471-4914\(03\)00031-5](http://dx.doi.org/10.1016/s1471-4914(03)00031-5).
22. Dalle-Donne, I., Scaloni, A., Giustarini, D., Cavarra, E., Tell, G., & Lungarella, G. et al. (2004). Proteins as biomarkers of oxidative/nitrosative stress in diseases: The contribution of redox proteomics. *Mass Spectrometry Reviews*, 24(1), 55-99. <http://dx.doi.org/10.1002/mas.20006>.
23. Di Meo, S., Reed, T., Venditti, P., & Victor, V. (2016). Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*, 2016, 1-44. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/1245049>.
24. Dorado Martínez, C., Rugerio Vargas, C., & Rivas-Arancibia, S. (2003). Estrés oxidativo y neurodegeneración. *Revista Facultad De Medicina UNAM*, 46(6), 229-235.
25. Faraj, M. & Salem, N. (2012). C-Reactive Protein. In *Blood Cell - An Overview of Studies in Hematology* (1st ed., pp. 89-100). Terry E. Moschandreu. <http://dx.doi.org/10.5772/47735>.
26. Fernández, D., Heredia, D., Alfonso, J., García, J., & González, E. (2014). Estrés Oxidativo en niños obesos. *Acta Bioclínica*, 4(8), 70-84.
27. Fernández-Sánchez, A., Madrigal-Santillán, E., Bautista, M., Esquivel-Soto, J., Morales-González, Á., & Esquivel-Chirino, C. et al. (2011). Inflammation, Oxidative Stress, and Obesity. *IJMS*, 12(12), 3117-3132. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms12053117>.
28. Flores-Lazaro, R., Rodríguez-Martínez, E., & Rivas-Arancibia, S. (2011). Consecuencias metabólicas de la alteración funcional del tejido adiposo en

- el paciente con obesidad. *Revista Medica Del Hospital General De México*, 74, 157-165.
29. Fransen, M., Nordgren, M., Wang, B., & Apanasets, O. (2012). Role of peroxisomes in ROS/RNS-metabolism: Implications for human disease. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis Of Disease*, 1822(9), 1363-1373. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbadis.2011.12.001>.
30. Gómez Meda, Belinda Claudia; Ramos Ibarra, María Luisa; Zamora Pérez, Ana Lourdes; Batista González, Cecilia Margarita; (2006). Diabetes, estrés oxidativo y antioxidantes. *Investigación en Salud*, VIIIabril, 7-15.
31. González-Chávez, A; Gutiérrez-Reyes, G; Elizondo-Argueta, S; León-Pedroza, J I; (2011). Implicaciones fisiopatológicas entre inflamación crónica y el desarrollo de diabetes y obesidad. *Cirugía y Cirujanos*, 79() 209-216. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=66221099017>
32. González-Torres, M., Betancourt-Rule, M., & Ortiz-Muñiz, R. (2000). Daño Oxidativo y Antioxidante. *Bioquímica*, 25(1), 3-8.
33. Gurung, P., Lukens, J., & Kanneganti, T. (2015). Mitochondria: diversity in the regulation of the NLRP3 inflammasome. *Trends In Molecular Medicine*, 21(3), 193-201. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molmed.2014.11.008>.
34. Gutiérrez JP, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, Villalpando-Hernández S, Franco A, Cuevas-Nasu L, Romero-Martínez M, Hernández-Ávila M. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública (MX).

35. Gutteridge, J. & Halliwell, B. (1989). 1 Iron toxicity and oxygen radicals. *Baillière's Clinical Haematology*, 2(2), 195-256. [http://dx.doi.org/10.1016/s0950-3536\(89\)80017-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0950-3536(89)80017-4).
36. Habich, C. & Sell, H. (2015). Heat shock proteins in obesity: links to cardiovascular disease. *Hormone Molecular Biology And Clinical Investigation*, 21(2). <http://dx.doi.org/10.1515/hmbci-2014-0040>.
37. Han, C. (2016). Roles of Reactive Oxygen Species on Insulin Resistance in Adipose Tissue. *Diabetes & Metabolism Journal*, 40(4), 272. <http://dx.doi.org/10.4093/dmj.2016.40.4.272>.
38. Haneklaus, M. & O'Neill, L. (2015). NLRP3 at the interface of metabolism and inflammation. *Immunol Rev*, 265(1), 53-62. <http://dx.doi.org/10.1111/imr.12285>.
39. Harman, D. (1956). Aging: A Theory Based on Free Radical and Radiation Chemistry. *Journal Of Gerontology*, 11(3), 298-300. <http://dx.doi.org/10.1093/geronj/11.3.298>.
40. Haro-Acosta ME, M., Ruíz Esparza-Cisneros, J., Delgado-Valdez, J., & Ayala-Figueroa, R. (2014). Proteína C-reactiva ultrasensible, estado nutricional y perfil bioquímico en escolares mexicanos. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*, 52(4), 398-403.
41. He, G. (2016). Hypoxia increases Nrf2-induced HO-1 expression via the PI3K Akt pathway. *Frontiers In Bioscience*, 21(2), 385-396. <http://dx.doi.org/10.2741/4395>.
42. Holvoet, P., Vanhaecke, J., Janssens, S., Van de Werf, F., & Collen, D. (1998). Oxidized LDL and Malondialdehyde-Modified LDL in Patients With

- Acute Coronary Syndromes and Stable Coronary Artery Disease. *Circulation*, 98(15), 1487-1494. <http://dx.doi.org/10.1161/01.cir.98.15.1487>.
43. Huh, J., Park, Y., Ham, M., & Kim, J. (2014). Crosstalk between Adipocytes and Immune Cells in Adipose Tissue Inflammation and Metabolic Dysregulation in Obesity. *Molecules And Cells*, 37(5), 365-371. <http://dx.doi.org/10.14348/molcells.2014.0074>.
44. Inagi, R. & Miyata, T. (1999). Oxidative Protein Damage with Carbohydrates and Lipids in Uremia: 'Carbonyl Stress'. *Blood Purif*, 17(2-3), 95-98. <http://dx.doi.org/10.1159/000014380>.
45. Izaola, O., de Luis, D., Sajoux, I., Domingo, J., & Vidal, M. (2015). Inflamación y obesidad (lipoinflamación). *Nutrición Hospitalaria*, 31(6), 2352-2358. <http://dx.doi.org/10.3305/nh.2015.31:23522358>.
46. Jais, A., Einwallner, E., Sharif, O., Gossens, K., Lu, T., & Soyak, S. et al. (2014). Heme Oxygenase-1 Drives Metaflammation and Insulin Resistance in Mouse and Man. *Cell*, 158(1), 25-40. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2014.04.043>.
47. Jia, G., Aroor, A., Whaley-Connell, A., & Sowers, J. (2014). Fructose and Uric Acid: Is There a Role in Endothelial Function?. *Curr Hypertens Rep*, 16(6). <http://dx.doi.org/10.1007/s11906-014-0434-z>.
48. Kaufer-Horwitz, Martha, & Toussaint, Georgina. (2008). Indicadores antropométricos para evaluar sobrepeso y obesidad en pediatría. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, 65(6), 502-518.

49. Klop, B., Elte, J., & Cabezas, M. (2013). Dyslipidemia in Obesity: Mechanisms and Potential Targets. *Nutrients*, 5(4), 1218-1240. <http://dx.doi.org/10.3390/nu5041218>.
50. Konisberg Fainstein, M. (2008). *Radicales Libres y Estrés Oxidativo. Aplicaciones Médicas*. (pp. 3-330). México: Martín Martínez Moreno.
51. Lawrence, R. & Burk, R. (1976). Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochemical And Biophysical Research Communications*, 71(4), 952-958. [http://dx.doi.org/10.1016/0006-291x\(76\)90747-6](http://dx.doi.org/10.1016/0006-291x(76)90747-6).
52. Lazzarino, G., Tavazzi, B., Di Pierro, D., Vagnozzi, R., Penco, M., & Giardina, B. (1995). The relevance of malondialdehyde as a biochemical index of lipid peroxidation of postischemic tissues in the rat and human beings. *Biological Trace Element Research*, 47(1-3), 165-170. <http://dx.doi.org/10.1007/bf02790114>.
53. Le Lay, S., Simard, G., Martinez, M., & Andriantsitohaina, R. (2014). Oxidative Stress and Metabolic Pathologies: From an Adipocentric Point of View. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*, 2014, 1-18. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/908539>.
54. León-Pedroza, J., González-Tapia, L., del Olmo-Gil, E., Castellanos-Rodríguez, D., Escobedo, G., & González-Chávez, A. (2015). Low-grade systemic inflammation and the development of metabolic diseases: From the molecular evidence to the clinical practice. *Cirugía Y Cirujanos (English Edition)*, 83(6), 543-551. <http://dx.doi.org/10.1016/j.circen.2015.11.008>.
55. Liem, E., van Buuren, S., Sauer, P., Jaspers, M., Stolk, R., & Reijneveld, S. (2013). Growth during Infancy and Childhood, and Adiposity at Age 16 Years:

- Ages 2 to 7 Years Are Pivotal. *The Journal Of Pediatrics*, 162(2), 287-292.e2.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2012.07.053>.
56. Linna, M., Ahotupa, M., Kukkonen-Harjula, K., Fogelholm, M., & Vasankari, T. (2015). Co-existence of insulin resistance and high concentrations of circulating oxidized LDL lipids. *Annals Of Medicine*, 47(5), 394-398.
<http://dx.doi.org/10.3109/07853890.2015.1043939>.
57. Lo, J., Maring, B., Chandra, M., Daniels, S., Sinaiko, A., & Daley, M. et al. (2013). Prevalence of obesity and extreme obesity in children aged 3-5 years. *Pediatric Obesity*, 9(3), 167-175. <http://dx.doi.org/10.1111/j.2047-6310.2013.00154.x>
58. Maldonado Saavedra, O., Jiménez Vázquez, E., Guapillo Vargas, M., Ceballos Reyes, G., & Méndez Bolaina, E. (2010). Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. *Revista Medica Universidad Veracruzana, Julio-Diciembre*, 32-39.
59. Manna, P. & Jain, S. (2015). Obesity, Oxidative Stress, Adipose Tissue Dysfunction, and the Associated Health Risks: Causes and Therapeutic Strategies. *Metabolic Syndrome And Related Disorders*, 13(10), 423-444.
<http://dx.doi.org/10.1089/met.2015.0095>.
60. Marseglia, L., Manti, S., D'Angelo, G., Nicotera, A., Parisi, E., & Di Rosa, G. et al. (2014). Oxidative Stress in Obesity: A Critical Component in Human Diseases. *IJMS*, 16(1), 378-400. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms16010378>
61. Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesì, C., & Giovannini, C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *The Journal Of*

- Nutritional Biochemistry*, 16(10), 577-586.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2005.05.013>.
62. Matthews, D., Hosker, J., Rudenski, A., Naylor, B., Treacher, D., & Turner, R. (1985). Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, 28(7), 412-419. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00280883>.
63. Murdolo, G., Piroddi, M., Luchetti, F., Tortoioli, C., Canonico, B., & Zerbini, C. et al. (2013). Oxidative stress and lipid peroxidation by-products at the crossroad between adipose organ dysregulation and obesity-linked insulin resistance. *Biochimie*, 95(3), 585-594.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2012.12.014>.
64. Nanri, A., Moore, M., & Kono, S. (2007). Impact of C-Reactive Protein on Disease Risk and Its Relation to Dietary Factors: Literature Review. *Asian Pac J Cancer Prev*, 8(2), 167-177.
65. Netzer, N., Gatterer, H., Faulhaber, M., Burtscher, M., Pramsohler, S., & Pesta, D. (2015). Hypoxia, Oxidative Stress and Fat. *Biomolecules*, 5(2), 1143-1150. <http://dx.doi.org/10.3390/biom5021143>.
66. Nienaber-Rousseau, C., Swanepoel, B., Dolman, R., Pieters, M., Conradie, K., & Towers, G. (2014). Interactions between C-Reactive Protein Genotypes with Markers of Nutritional Status in Relation to Inflammation. *Nutrients*, 6(11), 5034-5050. <http://dx.doi.org/10.3390/nu6115034>.
67. Oberley, L. & Spitz, D. (1984). [61] Assay of superoxide dismutase activity in tumor tissue. *Methods In Enzymology*, 457-464.
[http://dx.doi.org/10.1016/s0076-6879\(84\)05064-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05064-3).

68. *Obesidad y sobrepeso*, Centro de Prensa, Organización Mundial de la Salud. Actualización 2016; Recuperado el 6 de Septiembre del 2016, de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/#>.
69. Olivares, J. & Arrellano, A. (2008). Bases moleculares de las acciones de la insulina. *REB*, 9, 9-18.
70. Pennacchiotti, G L; Perruzza, F; Benozzi, S F; (2012). Proteína C reactiva: un marcador bioquímico asociado con el síndrome metabólico y la obesidad abdominal. *Revista Argentina de Cardiología*, 80() 455-460. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=305326996007>.
71. Pennacchiotti, Graciela L.; Perruzza, Fernando; Benozzi, Silvia F.; (2012). Proteína C reactiva: un marcador bioquímico asociado con el síndrome metabólico y la obesidad abdominal. *Revista Argentina de Cardiología*, Noviembre-Diciembre, 455-460.
72. Pérez-Morales, E., Bacardí-Gascón, M., & Jiménez-Cruz, A. (2012). Sugar-sweetened beverage intake before 6 years of age and weight or BMI status among older children; systematic review of prospective studies. *Nutrición Hospitalaria*, 28, 47-51. <http://dx.doi.org/10.3305/nh.2013.28.1.6247>.
73. Pillon, N., Vella, R., Soulère, L., Becchi, M., Lagarde, M., & Soulage, C. (2011). Structural and Functional Changes in Human Insulin Induced by the Lipid Peroxidation Byproducts 4-Hydroxy-2-nonenal and 4-Hydroxy-2-hexenal. *Chem. Res. Toxicol.*, 24(5), 752-762. <http://dx.doi.org/10.1021/tx200084d>.
74. Rahman, I., Kode, A., & Biswas, S. (2007). Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic

- recycling method. *Nature Protocols*, 1(6), 3159-3165.
<http://dx.doi.org/10.1038/nprot.2006.378>.
75. Rani, V., Deep, G., Singh, R., Palle, K., & Yadav, U. (2016). Oxidative stress and metabolic disorders: Pathogenesis and therapeutic strategies. *Life Sciences*, 148, 183-193. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2016.02.002>.
76. Reznick, A. & Packer, L. (1994). [38] Oxidative damage to proteins: Spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods In Enzymology*, 357-363. [http://dx.doi.org/10.1016/s0076-6879\(94\)33041-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0076-6879(94)33041-7).
77. Rippe, J. & Angelopoulos, T. (2013). Sucrose, High-Fructose Corn Syrup, and Fructose, Their Metabolism and Potential Health Effects: What Do We Really Know?. *Advances In Nutrition: An International Review Journal*, 4(2), 236-245. <http://dx.doi.org/10.3945/an.112.002824>.
78. Rolland-Cachera, M., Deheeger, M., Maillot, M., & Bellisle, F. (2006). Early adiposity rebound: causes and consequences for obesity in children and adults. *International Journal Of Obesity*, 30, S11-S17.
<http://dx.doi.org/10.1038/sj.ijo.0803514>.
79. Rolland-Cachera, M., Sempé, M., Guilloud-Bataille, M., Patois, E., Péquignot-Guggenbuhl, F., & Fautrad, V. (1982). Adiposity indices in children. *The American Journal Of Clinical Nutrition*, 36(1), 178-84.
80. Rupérez, A., Gil, A., & Aguilera, C. (2014). Genetics of Oxidative Stress in Obesity. *IJMS*, 15(2), 3118-3144. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms15023118>.
81. Salinas-Martínez, A., Mathiew-Quirós, A., Hernández-Herrera, R., González-Guajardo, E., & Garza-Sagástegui, M. (2014). Estimación de sobrepeso y

- obesidad en preescolares Normatividad nacional e internacional. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*, 52(1), S26-S33.
82. Sanchez, C., Rodeiro, I., Garrido, G., & Delgado, R. (2005). Hemo-Oxigenasa 1: Un Promisorio Blanco Terapéutico. *Acta Farm. Bonaerense*, 24(4), 629-26.
83. Savini, I., Gasperi, V., & Catani, M. (2016). Oxidative Stress and Obesity. *Obesity*, 65-86. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-19821-7_6.
84. *Secretaria de Salud del Distrito Federal. D.F. políticas para la prevención de la obesidad..* (2013). Retrieved 21 September 2016, from <http://alianzasalud.org.mx/wp-content/uploads/2013/08/Pol%C3%ADticas-Prevenci%C3%B3n-Obesidad.pdf>.
85. Selva Rivas-Arancibia, Cesar Gallegos-Ríos, Nancy Gomez-Crisostomo, Ever Ferreira-Garcidueñas, Dulce Flores Briseño, Luz Navarro and Erika Rodríguez-Martínez (2011). Oxidative Stress and Neurodegenerative Disease, *Neurodegenerative Diseases - Processes, Prevention, Protection and Monitoring*, Dr Raymond Chuen-Chung Chang (Ed.), ISBN: 978-953-307-485-6, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/neurodegenerative-diseases-processes-prevention-protection-andmonitoring/oxidative-stress-and-neurodegenerative-disease>.
86. Sharma, K. (2016). Obesity and Diabetic Kidney Disease: Role of Oxidant Stress and Redox Balance. *Antioxidants & Redox Signaling*, 25(4), 208-216. <http://dx.doi.org/10.1089/ars.2016.6696>.

87. Sherwood, N., JaKa, M., Crain, A., Martinson, B., Hayes, M., & Anderson, J. (2015). Pediatric Primary Care–Based Obesity Prevention for Parents of Preschool Children: A Pilot Study. *Childhood Obesity*, 11(6), 674-682. <http://dx.doi.org/10.1089/chi.2015.0009>.
88. Siems, W., Grune, T., & Esterbauer, H. (1995). 4-Hydroxynonenal formation during ischemia and reperfusion of rat small intestine. *Life Sciences*, 57(8), 785-789. [http://dx.doi.org/10.1016/0024-3205\(95\)02006-5](http://dx.doi.org/10.1016/0024-3205(95)02006-5).
89. Sies, H., Cadenas, E., Symons, M., & Scott, G. (1985). Oxidative Stress: Damage to Intact Cells and Organs [and Discussion]. *Philosophical Transactions Of The Royal Society B: Biological Sciences*, 311(1152), 617-631. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.1985.0168>.
90. Suzuki, H., Sasaki, T., Kumagai, T., Sakaguchi, S., & Nagata, K. (2010). Malondialdehyde-modified low density lipoprotein (MDA-LDL)-induced cell growth was suppressed by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *J. Toxicol. Sci.*, 35(2), 137-147. <http://dx.doi.org/10.2131/jts.35.137>.
91. Taemi Origassa, C. & Saraiva Câmara, N. (2013). Cytoprotective role of heme oxygenase-1 and heme degradation derived end products in liver injury. *World Journal Hepatology*, 5(10), 541-549. <http://dx.doi.org/10.4254/wjh.v5.i10.541>.
92. Taylor, R., Grant, A., Goulding, A., & Williams, S. (2005). Early adiposity rebound: review of papers linking this to subsequent obesity in children and adults. *Current Opinion In Clinical Nutrition And Metabolic Care*, 8(6), 607-612. <http://dx.doi.org/10.1097/01.mco.0000168391.60884.93>.

93. Tu, T., Joe, Y., Choi, H., Chung, H., & Yu, R. (2014). Induction of Heme Oxygenase-1 with Hemin Reduces Obesity-Induced Adipose Tissue Inflammation via Adipose Macrophage Phenotype Switching. *Mediators Of Inflammation*, 2014, 1-10. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/290708>.
94. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal Of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44-84. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
95. Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1), 1-40. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2005.12.009>.
96. Wang, W., Zhang, Y., Lu, W., & Liu, K. (2015). Mitochondrial Reactive Oxygen Species Regulate Adipocyte Differentiation of Mesenchymal Stem Cells in Hematopoietic Stress Induced by Arabinosylcytosine. *PLOS ONE*, 10(3), e0120629. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0120629>.
97. Woo, J., Shin, K., Yoo, J., Park, S., & Kang, S. (2011). The effects of detraining on blood adipokines and antioxidant enzyme in Korean overweight children. *European Journal Of Pediatrics*, 171(2), 235-243. <http://dx.doi.org/10.1007/s00431-011-1518-2>.
98. Yousuf, O., Mohanty, B., Martin, S., Joshi, P., Blaha, M., & Nasir, K. et al. (2013). High-Sensitivity C-Reactive Protein and Cardiovascular Disease. *Journal Of The American College Of Cardiology*, 62(5), 397-408. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2013.05.016>.

99. Yu, J. & Lee, M. (2016). Mitochondria and the NLRP3 inflammasome: physiological and pathological relevance. *Archives Of Pharmacal Research*. <http://dx.doi.org/10.1007/s12272-016-0827-4>.
100. Zhou, L., Xu, J., Rao, C., Han, S., Wan, Z., & Qin, L. (2015). Effect of Whey Supplementation on Circulating C-Reactive Protein: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Nutrients*, 7(2), 1131-1143. <http://dx.doi.org/10.3390/nu7021131>.
101. Zhou, L., Xu, J., Rao, C., Han, S., Wan, Z., & Qin, L. (2015). Effect of Whey Supplementation on Circulating C-Reactive Protein: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Nutrients*, 7(2), 1131-1143. <http://dx.doi.org/10.3390/nu7021131>.

ANEXOS

Artículos publicados:

Carmona-Montesinos, E., Ruiz-Fragoso, Z., Ponce Hinojosa, G., & Rivas-Arancibia, S. (2015). Changes In C-Reactive Protein And Biochemical Profile In Preschool Children With Obesity. *Nutrición Hospitalaria*, 32(4), 1548-1553. <http://dx.doi.org/10.3305/nh.2015.32.4.9569>.

Factor de impacto: 1.52

Carmona-Montesinos, E., Velazquez-Perez, R., Pichardo Aguirre, E., & Rivas-Arancibia, S. (2016). Obesity, Oxidative Stress, and Their Effect on Serum Heme Oxygenase-1 Concentrations and Insulin in Children Aged 3 to 5 Years in a Pediatric Hospital of the Ministry of Health CDMX. *Childhood Obesity*. <http://dx.doi.org/10.1089/chi.2016.0155>.

Factor de impacto: 2.54