



ALBUMINA MODIFICADA POR LA ISQUEMIA COMO UN BIOMARCADOR DE ESTRÉS

OXIDATIVO EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2

ADRIANA MILENA SANCHEZ MARTINEZ

Universidad Nacional de Colombia

Facultad De Ciencias, Departamento De Química

Bogotá, Colombia

2016

**ALBUMINA MODIFICADA POR LA ISQUEMIA COMO UN BIOMARCADOR DE ESTRÉS
OXIDATIVO EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2**

ADRIANA MILENA SANCHEZ MARTINEZ

TRABAJO FINAL DE MAESTRÍA

Director

Martha Nancy Calderón Ozuna

PhD, Profesora del Departamento de Química,

Universidad Nacional de Colombia

Universidad Nacional de Colombia

Facultad De Ciencias, Departamento De Química

Bogotá, Colombia

2016

CONTENIDO

ABSTRACT.....	9
1 INTRODUCCIÓN.....	10
2 OBJETIVOS.....	12
2.1 General.....	12
2.2 Específicos.....	12
3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	13
4 MARCO TEÓRICO	14
4.1 Radicales libres.....	14
4.2 Albumina sérica humana como biomolécula blanco de las ROS.	17
4.2.1 Caracterización de la albumina sérica humana	17
4.2.2 Reactividad región amino terminal de la albumina sérica humana	19
4.3 Efectos metabólicos en la isquemia.....	23
4.4 Producción de radicales libres frente al Incremento de metales a nivel celular.....	23
4.5 Daño oxidativo a otras biomoléculas.....	25
4.5.1 Daño oxidativo a lípidos.....	25
4.5.2 Daño oxidativo al ADN	25
4.6 Troponina y proteína C reactiva.....	26
4.7 Cinética de la albúmina modificada por isquemia.....	28
4.8 Identificación de albumina modificada por la isquemia.....	29
4.8.1 Protocolo de identificación de albumina modificada por la isquemia por métodos colorimétricos.	29
4.8.2 Protocolo de identificación de albumina modificada por la isquemia, mediante inmunodeteccion	30
4.8.3 Protocolo de identificación de albumina modificada por la isquemia mediante espectroscopia de fluorescencia de rayos X.	31
5 METODOLOGÍA	33
5.1 Parámetros de consulta y selección de la información	33
5.1.1 Bases de datos consultadas:	33
5.1.2 Especificación de búsqueda	33
5.2 Análisis de impacto de las revistas científicas	34
5.3 Metodología implementada en el proyecto de la Universidad Nacional	35

6	RESULTADOS Y ANÁLISIS.....	37
6.1	Determinación de IMA en pacientes con diferentes patologías.....	37
6.1.1	Is ischemia modified albumin a disease activity marker for inflammatory bowel diseases?.	38
6.1.2	Serum ischemia-modified albumin levels at diagnosis and during treatment of late-onset neonatal sepsis.....	39
6.1.3	Ischemia-modified albumin as an oxidative stress biomarker in early pregnancy loss.....	41
6.1.4	Evaluation of the role of ischemia modified albumin as a new biochemical marker for differentiation between ischemic and hemorrhagic stroke.	42
6.2	Determinación de IMA en pacientes DM2.....	44
6.2.1	A synergistic role of ischemia modified albumin and high-sensitivity troponin T in the early diagnosis of acute coronary syndrome.....	45
6.2.2	Ischemia Modified Albumin-An Indicator of Widespread Endothelial Damage in Diabetes Mellitus	47
6.2.3	Ischemia Modified Albumin (IMA) - A Marker of Glycaemic Control and Vascular Complications in Type 2 Diabetes Mellitus.....	48
6.3	Resultados obtenidos en el proyecto de la Universidad Nacional de Colombia.	51
6.4	Análisis de resultados de la revisión bibliográfica.	54
7	CONCLUSIONES.....	56
8	REFERENCIAS.....	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	<i>Reducción del oxígeno molecular mediante la adición sucesiva de electrones.....</i>	<i>15</i>
Figura 2.	<i>Reacción de Fenton y Haber –Weiss; producción de radical ($\text{OH} \cdot$)</i>	<i>16</i>
Figura 3.	<i>Metabolismo del oxígeno durante la isquemia.....</i>	<i>17</i>
Figura 4	<i>Modelo secuencia aminoácidos de la albumina sérica humana</i>	<i>18</i>
Figura 5.	<i>Modelo estructura tridimensional de la albumina sérica humana</i>	<i>19</i>
Figura 6.	<i>Estructura de 2-oxohistidina</i>	<i>20</i>
Figura 7.	<i>Modelo de reacción Histidina, Alanina y Asparagina N-terminal.</i>	<i>21</i>
Figura 8.	<i>Ruptura del enlace peptídico por vías (a) diamida y (b) α-amidación</i>	<i>22</i>
Figura 9.	<i>Mecanismo de la producción de albúmina modificada por isquemia.....</i>	<i>24</i>
Figura 10.	<i>Daño oxidativo a lípidos, ataque de un radical libre a un ácido graso poliinsaturado.</i>	<i>25</i>
Figura 11.	<i>Daño oxidativo a DNA.</i>	<i>26</i>
Figura 12.	<i>Evolución de los ensayos de troponina cardiaca (cTn) y sus puntos de corte diagnósticos.</i>	<i>27</i>
Figura 13.	<i>Cinética de la albúmina modificada por isquemia</i>	<i>28</i>
Figura 14.	<i>Esquema de unión de Cobalto a la Albumina Sérica Humana</i>	<i>30</i>
Figura 15	<i>Identificación de albumina modificada por la isquemia, mediante inmunodetección.....</i>	<i>30</i>
Figura 16	<i>Esquema del ensayo XRF propuesto.....</i>	<i>32</i>

Figura 17. Comparación de los niveles de IMA entre los grupos control y con enfermedad inflamatoria.....	39
Figura 18. Niveles de IMA en grupos de control y pacientes.....	44
Figura 19. Gráficas de caja y bigotes que muestra la comparación de los niveles de IMA.....	46
Figura 20. IMA en los grupos de control glicémico bueno y pobre.....	50
Figura 21. Comparación entre los niveles de IMA, reportados en el trabajo realizado en la Universidad Nacional de Colombia.....	52

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Modificaciones reversibles e irreversibles de proteínas por oxidación.....	20
Tabla 2. Aminoácidos más susceptibles a oxidación.....	21
Tabla 3. Clasificación de las revistas consultadas según Colciencias.....	35
Tabla 4. Artículos determinación IMA diferentes patologías.....	37
Tabla 5. Características demográficas y hallazgos de laboratorio de las poblaciones estudiadas.....	38
Tabla 6. Hallazgos de laboratorio en el grupo de sepsis antes y después del tratamiento.....	40
Tabla 7. Características clínicas y de laboratorio de los pacientes IMC.....	41
Tabla 8. Índice IMA e IMA en los grupos estudiados.....	43
Tabla 9. Características artículo 1 en pacientes DM2.....	45
Tabla 10. Resumen de la distribución de los niveles séricos de IMA entre los diferentes grupos de estudio... ..	46
Tabla 11. El nivel de IMA, MDA, hsCRP y HbA1c en la población de estudio.....	48
Tabla 12. Perfil demográfico de los sujetos del estudio.....	49
Tabla 13. IMA (Media \pm SEM) en sujetos con complicaciones de la diabetes.....	50
Tabla 14.y 15 Perfil demográfico de sujetos del estudio realizado en la Universidad Nacional de Colombia.....	51
Tabla 16 Relación valores elevados IMA y PCR.....	53

ABREVIATURAS Y SIGLAS

IMA: Albumina Modificada por la Isquemia.

FDA: Food and Drug Administration.

DM2: Diabetes Mellitus tipo 2.

ROS: Especie Reactiva de Oxígeno.

RNS: Especie Reactiva de Nitrógeno.

(OH·): Radical hidroxilo.

(H₂O₂): Peróxido de hidrógeno.

(O₂·): Radical Superóxido.

(NO·): Radical Oxido Nítrico.

(ONOO ·): Peroxinitrito.

(L ·): Radical Lipídico.

(LOO ·): Radical Hidroperoxillipídico.

(LOOH): Hidroperóxido Lipídico

POL: peroxidación Lipídica

UV: Ultra Violeta.

IMC: índice de Masa Corporal

ASH: Albumina Sérica Humana.

Asp: Asparagina.

Ala: Alanina.

His: Histidina

MDI: Infarto de Miocardio.

AI: Angina Inestable.

PCR: Proteína C Reactiva.

cTnT: Troponina Cardíaca T.

cTnI: Troponina Cardíaca I.

MDA: Malondialdehído.

SCA: Síndrome Coronario Agudo.

DTT: Ditiotreitól.

hs-cTnT: Troponina Sensible.

MDA: Malondialdehído.

HDL: Lipoproteína de Alta Densidad.

ABSU: Unidades de Absorbancia.

HbA1c: Hemoglobina Glicosilada

LDL: Lipoproteína de Baja Densidad

ACB: Unión de Cobalto a Albumina (Albumin Cobalt Binding).

IBD: Enfermedad inflamatoria intestinal.

UC: Colitis Ulcerosa.

CD: Enfermedad Crohn.

hs CRP: Proteína C reactiva alta sensibilidad.

PCT: Procalcitonina.

AST: Aspartato Aminotransferasa.

ALT: Alanina Aminotransferasa.

TC: Tomografía Computarizada.

AIS: Accidente Cerebrovascular Isquémico Agudo.

RESUMEN

En este trabajo de grado se realizó una búsqueda sistemática de los reportes científicos del biomarcador albumina modificada por la isquemia (IMA por sus siglas en inglés, Ischemia Modified Albumin). Se ha determinado la importancia del mismo por ser un biomarcador de seguimiento además de ser sensible frente a los eventos iniciales de diversas patologías caracterizadas por el estrés oxidativo. Para esto, se seleccionan artículos, utilizando las bases de datos NCBI, SCOPUS, SCIENCE DIRECT, EMBASE, Sinab y Google Scholar. En este proceso, se utilizaron las palabras claves: Radicales libres, especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, estrés oxidativo, albumina modificada por la isquemia (IMA), y diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Uno de los parámetros para la selección de artículos fue la fecha de publicación, de no mayor a cuatro años (75% de los analizados), sin descartar aquellos pioneros en el desarrollo del tema (25%); los artículos de tipo original correspondieron al 83%. La búsqueda se centró en cuatro temas específicos: el estrés oxidativo, como factor determinante en diferentes patologías. Las modificaciones estructurales de la albumina a causa de las especies reactivas de oxígeno. Los reportes en los que se mide IMA como un biomarcador de diagnóstico y seguimiento de patologías asociadas al estrés oxidativo, y con mayor detalle en DM2. Finalmente, se analizaron los resultados del proyecto “Biomarcadores de estrés oxidativo y control glicémico en pacientes con diabetes mellitus tipo 2”, llevado a cabo en la Universidad Nacional de Colombia, siendo el primer trabajo reportado sobre el biomarcador en Colombia. Los resultados indican una relación entre los pacientes que presentan un valor elevado de IMA y factores tales como la hipercolesterolemia, mal control glicémico y sobrepeso, sugiriendo que IMA puede tener un valor de seguimiento en el desarrollo de complicaciones de la DM2.

PALABRAS CLAVE

Radicales libres, especies reactivas de oxígeno (ROS), especies reactivas de nitrógeno (RNS), estrés oxidativo, albumina modificada por la isquemia (IMA), y Diabetes Mellitus tipo 2.

ABSTRACT

In this work, a systematic search of the scientific reports of the ischemia-modified albumin biochemist (Ischemia Modified Albumin) was performed. It has been determined the importance of the same as a biomarker of follow-up in addition to being sensitive to the initial events of various pathologies characterized by oxidative stress. The search and selection of articles were done using NCBI, SCOPUS, SCIENCE DIRECT, EMBASE, Sinab and Google Scholar databases. In this process, the following keywords were used: Free radicals, reactive oxygen and nitrogen species, oxidative stress, ischemia-modified albumin (IMA), type 2 diabetes mellitus (DM2). One of the parameters for the selection of articles was the publication date, of no more than four years (75% of the analyzed ones), without discarding those pioneers in the development of the subject (25%); the articles of original type corresponded to (83%). The research focused on four specific topics: oxidative stress, as a determinant factor in different pathologies. Structural modifications of albumin because of reactive oxygen species. The reports in which IMA is measured as a biomarker for the diagnosis and follow-up of pathologies associated with oxidative stress, and in greater detail in DM2. Finally, the results of the project "Biomarkers of oxidative stress and glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus", carried out at the National University of Colombia, were the first work reported on the biomarker in Colombia. The results indicate a relationship between patients presenting a high value of AMI associated with hypercholesterolemia, poor glycemic control and overweight, suggesting that IMA may have a follow-up value in the development of DM2 complications.

KEYWORDS

Free radicals, reactive oxygen species (ROS), reactive nitrogen species (RNS), oxidative stress, ischemia-modified albumin (IMA), and diabetes mellitus type 2

1 INTRODUCCIÓN

El área de la salud ha sido impactada positivamente con el desarrollo de la ciencia y la tecnología, generando respuestas a numerosos problemas médicos (Bean, Pleil, & Hill, 2015). Con la elucidación de los mecanismos moleculares en diferentes patologías, se han logrado desarrollar diversos tratamientos, métodos diagnóstico y de seguimiento (Veskoukis et al., 2016). Ejemplo de esto son los biomarcadores, biomoléculas medibles en los tejidos, que proporcionan valores diagnóstico, pronóstico o de seguimiento (L. Yang, Hou, Wei, Thai, & Chai, 2016). Un biomarcador debe tener características de reproducibilidad en sus mediciones, ser sensible, reflejar en tiempo real el estado del paciente, brindando información imposible de conseguir por otro medio, además de tener un costo razonable (Manzur, 2012)(L. Yang et al., 2016).

El biomarcador “Albumina Modificada por la Isquemia (IMA, por sus siglas en inglés Ischemia Modified Albumin)” fue aceptado por la Food and Drug Administration (FDA, USA), para el diagnóstico de isquemia cardiaca en adultos (FDA Consum, 2003). IMA, es un biomarcador de medida directa de estrés oxidativo, que fue descrito por primera vez al evaluar la pérdida de unión de cationes en la secuencia amino terminal de la proteína, debido al radical hidroxilo ($OH \cdot$) (Marx & Chevion, 1986). Teniendo en cuenta el daño oxidativo provocado por el aumento irregular de las especies reactivas de oxígeno (ROS), y la relación que se ha determinado en la modificación estructural y de función de la albumina sérica humana (ASH), IMA se ha propuesto para detección temprana de la isquemia miocárdica sin infarto (Bar-Or, Lau, & Winkler, 2000) (Lunardelli & Oliveira, 2015). IMA es de aplicación clínica de rutina, en los países desarrollados, en la sospecha de infarto de miocardio. Pero más recientemente se está analizando su valor predictivo y de seguimiento en condiciones hipóxicas potencialmente mortales (Ashok Kumar & Subramanian, 2016). Se ha evidenciado que IMA aumenta en la isquemia de hígado, cerebro, riñón e intestino. Por lo tanto, puede tener un valor predictivo en la detección y la prevención de estos trastornos hipóxicos (Chawla & et.al, 2016)(Beyazit et al., 2016).

El estrés oxidativo se presenta cuando hay un aumento en la concentración de moléculas oxidantes, sean endógenas (provenientes del metabolismo) o exógenas (tabaco, radiaciones ionizantes, contaminación, estilos de vida poco saludables) (Gligorovski, Streckowski, Barbati, & Vione, 2015)(Lushchak, 2014). Es una condición que lleva a la pérdida del equilibrio entre las sustancias pro oxidantes (radicales libres) y los procesos antioxidantes del cuerpo, además de ser

la base de más de 200 patologías humanas (Hybertson, Gao, Bose, & McCord, 2011). Los radicales libres (RL) presentes en el organismo de forma endógena provienen del proceso de respiración celular que se lleva a cabo en la mitocondria (Buettner, 2015). Las especies reactivas de oxígeno (ROS) y nitrógeno (RNS) son producidas fisiológicamente en múltiples reacciones orgánicas de óxido-reducción (Lushchak, 2014). La producción controlada de RL interviene en procesos de señalización y diferenciación celular que regulan la proliferación, el metabolismo, el comportamiento celular y hasta la muerte celular programada (Weidinger & Kozlov, 2015) (Sena & Chandel, 2012). Sin embargo, la alteración de la dinámica redox del organismo conlleva a reacciones inespecíficas, que determinan el daño oxidativo a nivel de todas las biomoléculas (el DNA, proteínas, carbohidratos y lípidos) (Salinas et al, 2014), (Margaritelis et al., 2015)(Sena & Chandel, 2012).

Para el desarrollo de este trabajo se revisaron los antecedentes de IMA. Se pudo establecer a IMA como biomarcador en pacientes con patologías cuya característica era el estado de estrés oxidativo (Cáncer, enfermedad hepática, aborto repentino, hipoxia en recién nacidos, falla renal, DM2, obesidad, entre otras) (Dursun, Okumus, & Zenciroglu, 2012) (Ellidag, Eren, et al., 2013) (Ashok Kumar & Subramanian, 2016) (Buettner, 2015).

A la fecha no se encuentran reportes sobre el biomarcador en Colombia. En la Universidad Nacional de Colombia, se ha iniciado la valoración de IMA, con el proyecto “Biomarcadores de estrés oxidativo y control glicémico en pacientes con diabetes mellitus tipo 2”, bajo la financiación de la “Convocatoria del Programa Nacional de Proyectos para el fortalecimiento de la investigación, la creación y la innovación en posgrados de la Universidad Nacional de Colombia 2013-2015”. El desarrollo de este proyecto corresponde al primer reporte de análisis del biomarcador IMA en una población colombiana. Todos los pacientes del estudio hicieron parte del "Programa para la prevención de las complicaciones de la diabetes mellitus y de las dislipidemias" de la División de Lípidos y Diabetes de la Facultad de Medicina. Los resultados indican que el biomarcador IMA es altamente sensible a alteraciones metabólicas (hipercolesterolemia, mal control glicémico, sobrepeso y obesidad) (Calderón MN, Aranzález LH, Cárdenas FN, Gómez-Banoy N, Cuevas Higueta VA, 2016).

2 OBJETIVOS

2.1 General

Analizar la importancia de la albumina modificada por la isquemia (IMA), como un biomarcador de estrés oxidativo en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (DM2).

2.2 Específicos

2.2.1 Efectuar una búsqueda sistemática sobre el estado del arte del biomarcador IMA.

2.2.2 Realizar un análisis de los valores obtenidos, entre los niveles de IMA en pacientes con DM2, y algunos exámenes paraclínicos (glicemia, perfil lipídico, e índice de masa corporal).

3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La importancia en la detección temprana de las diferentes patologías, el seguimiento en su evolución y posibles complicaciones, requiere de la disposición de biomarcadores diagnóstico, pronóstico, comprobados y asequibles a los sistemas de salud (D. Chan & Leong, 2010) (Morrow, De Lemos, Sabatine, & Antman, 2003).

Dado que el estrés oxidativo es responsable de diversas patologías, disponer de biomarcadores que permitan evidenciar los efectos del incremento desregulado de los RL y sus efectos en el organismo será útil en el seguimiento de éstas (Lopresti, Maker, Hood, & Drummond, 2014). El estudio molecular de los RL es complejo, debido a su alta reactividad. Otra característica es la baja concentración en el estado estacionario, las múltiples reacciones en las que participan y su dependencia del estado fisiológico del organismo. En consecuencia no se cuenta con las herramientas técnicas para una evaluación fiable de sus niveles absolutos y relativos (Lushchak, 2014).

Una de las patologías asociadas al estrés oxidativo que requiere urgentemente de un biomarcador es la DM2 (Altamirano, 2011), especialmente en el pronóstico y seguimiento de sus complicaciones. Se ha evidenciado un aumento de esta enfermedad en la última década y la tendencia es a seguir en crecimiento (Inzucchi et al., 2015). Según la American Diabetes Association, para el año 2016 la prevalencia de la obesidad en niños y adolescentes tiene una función decisiva en el aumento de la DM2 (Frenk Baron & Márquez, 2010) (García de Blanco, Merino, Maulino, & Coromoto Méndez, 2012) (Crume et al., 2016). Esta patología se ha asociado con menor longevidad tanto de hombres como mujeres (8 años menos en comparación con sus homólogos sin la patología). De igual forma, se espera un incremento en las complicaciones de la DM2, entre ellas la enfermedad coronaria, nefropatía, retinopatía y ataques al corazón (Diabetes Federation International, 2016) (Mozaffarian & Benjamin, 2016).

Teniendo en cuenta estos antecedentes, los estudios de IMA lo caracterizan como un biomarcador sensible en los eventos iniciales de las patologías, además de permitir monitorear la evolución hacia posibles complicaciones (Gaze, 2013) (Ellidag, Bulbulla, et al., 2013).

4 MARCO TEÓRICO

4.1 Radicales libres

Los radicales libres (RL), son todas aquellas especies químicas cargadas o no, que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo (Singh, Devi, & Gollen, 2015). La configuración espacial de los RL es de gran inestabilidad y alta reactividad (Halliwell & Gutteridge, 2015), siendo los más característicos el superóxido ($O_2 \cdot^-$), el radical hidroxilo ($OH \cdot$), el óxido nítrico ($NO \cdot$) y el peroxinitrito ($ONOO \cdot$) (Nimse & Pal, 2015); el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) es una molécula que no clasifica como radical libre, sin embargo ciertas reacciones pueden dar paso a la formación del radical hidroxilo (Lushchak, 2014). Cuando se presenta la desregulación de las especies reactivas de oxígeno, debido a su extremada inestabilidad y a presentar un tiempo de vida media muy corto (por ejemplo $O_2 \cdot^-$: $2,7 \times 10^5 M^{-1} \times s^{-1}$ constante de velocidad segundo orden) pueden determinar el daño oxidativo en biomoléculas (Lushchak, 2014) (Mittal, Siddiqui, Tran, Reddy, & Malik, 2014).

La producción de radicales libres en el organismo, es un proceso fisiológico, que es controlado por defensas antioxidantes enzimáticas, como las enzimas superóxido dismutasa, catalasas y las peroxidasas. Moléculas de carácter exógeno como la vitamina E y la vitamina C también regulan la presencia de radicales libres (Oxilia, 2014) (Rodríguez, Alonso, & Boyero, 2003). El estrés fisiológico regula mecanismos de respuesta inmune, señalización celular, muerte celular programada, entre otras (Bruno, 2015) (Slater, 1984). Ese balance puede verse alterado por aumento en los RL exógenos provenientes de la contaminación, entre ellos, radiaciones ionizantes, el tabaco, y en general estilos de vida no saludables (Nimse & Pal, 2015). Las especies reactivas del oxígeno (ROS), son RL que se producen debido a una reducción parcial del oxígeno molecular (O_2), el cual adquiere electrones que son donados de forma equivocada por reacciones de óxido-reducción, logrando solo una reducción parcial ($O^{1-}, O_2^{\frac{1}{2}-}$) (Becker, 2004) (Bruno, 2015) (Ray, Huang, & Tsuji, 2012) (Halliwell & Gutteridge, 2015). Estas especies, al encontrarse sobre expresadas en el organismo, generan un estado de estrés oxidativo, provocando daño celular directo (Singh et al., 2015). Se ha determinado que el estrés oxidativo tiene una estrecha relación con el incremento en la morbimortalidad de patologías como aterosclerosis, cáncer, enfermedades del sistema nervioso central, enfermedades autoinmunes, daño por isquemia-reperusión y daño renal (Becker, 2004).

En el proceso de la respiración celular, la reducción del oxígeno es un paso indispensable, en la cadena de transporte de electrones, por ejemplo, el oxígeno acepta 2 electrones en la producción de agua (Martinez, 2005)(Zorov, Juhaszova, & Sollott, 2014). Es en este proceso, en donde existe la mayor probabilidad de generar ROS, ya que se cuenta con la energía y el potencial redox necesario para la reducción parcial del oxígeno (Martínez, 2005) (Zorov et al., 2014)(Quinlan, Perevoshchikova, Hey-Mogensen, Orr, & Brand, 2013).

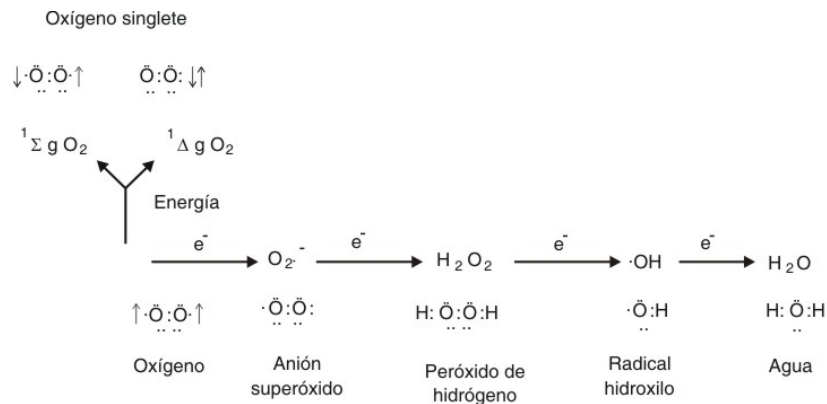


Figura 1 Reducción del oxígeno molecular mediante la adición sucesiva de electrones. Imagen tomada de (Martinez, 2005)

El O_2 molecular es un biradical, que presenta 2 electrones ($2e^-$) sin aparear (Figura 1). Sin embargo, estos $2e^-$ tienen el mismo spin, lo que impide que el O_2 reaccione directamente con otros compuestos (Martínez, 2005) (Lushchak, 2014) (Mittal et al., 2014).

Durante los últimos años, se ha incrementado el interés biológico en los RL, como el anión radical superóxido ($O_2^{\cdot -}$), radical hidroxilo ($OH \cdot$), óxido nítrico ($NO \cdot$), radical dióxido de nitrógeno ($NO_2 \cdot$), por la acción lesiva que tienen sobre diferentes biomoléculas (Lombide, 2014) (Nimse & Pal, 2015). Se ha determinado que estas especies tienen tiempos de vida media de la orden de milisegundos, además de presentar alta reactividad inespecífica (Sies, Helmut, 2013).

Uno de los radicales más nocivos en los sistemas biológicos es el radical $OH \cdot$, tiene la capacidad de reaccionar con las biomoléculas entre ellas proteínas y ácidos nucleicos con constantes de velocidad de $10^9 M^{-1} S^{-1}$. Dichas especies son producidas esencialmente en la reacción de Fenton y Haber Weiss (Figura 2), en donde, a partir de $O_2^{\cdot -}$ y H_2O_2 , en la presencia de trazas de metales como el hierro, se produce el $OH \cdot$ (Bayr, 2005) (Sies, Helmut, 2013).

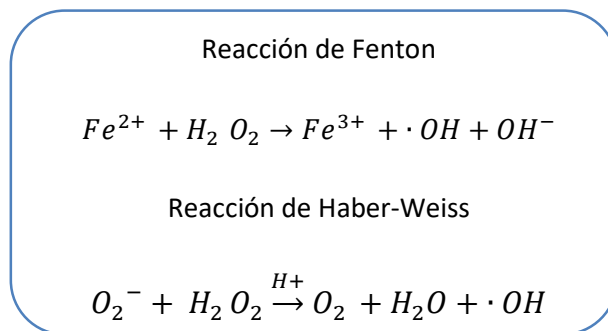


Figura 2. Reacciones de Fenton y Haber –Weiss; producción de radical ($\cdot OH$) en presencia de trazas de metales (Fe) Adaptado de Kanti, Wati, & Fatima-Shad, 2014.

Otro proceso de daño oxidativo celular, se da por la interacción del $\cdot OH$ con los ácidos grasos poliinsaturados, formándose un radical lipídico (Kanti, Wati, & Fatima-Shad, 2014). El $\cdot OH$ puede atacar un átomo de hidrógeno metilénico de un ácido graso y formar un radical lipídico ($L\cdot$), como resultado queda un e^- sin aparear en el átomo del carbono metilénico (Sies, Helmut, 2013). Este radical sufre un reordenamiento molecular que produce un dieno que reacciona con el oxígeno molecular para dar lugar a un radical hidroperoxilipídico ($LOO\cdot$) (Kanti et al., 2014). Dicho radical extrae un átomo de hidrógeno del carbono del grupo metilénico del ácido graso poliinsaturado vecinal, y forma otro $L\cdot$ y el hidroperóxido lipídico ($LOOH$) (Halliwell & Gutteridge, 2015). El $L\cdot$ se combina con otra molécula de oxígeno provocando un reacción en cadena, proceso conocido como peroxidación lipídica (POL), este proceso afecta la fluidez de la membrana plasmática (Guéraud et al., 2010) (Halliwell, 2012).

Además de la producción de RL a nivel celular, también son de interés biológico las especies que no son propiamente radicales libres como es el caso del H_2O_2 (Bruno, 2015), que puede ser producido por acción enzimática de la superoxidodismutasa sobre el $O_2^{\cdot -}$, además de otras enzimas oxidasas en el metabolismo celular (Figura3). Se ha determinado que a bajas concentraciones dicha especie es poco reactiva (Oxilia, 2014), sin embargo en altas concentraciones, está en capacidad de oxidar proteínas, y causar el rompimiento de hebras de DNA, pero el efecto más nocivo es la producción de $\cdot OH$ (Bayr, 2005)(Sies, Helmut, 2013).

La albumina sérica humana (ASH) al encontrarse en altas concentraciones es una de las biomoléculas blanco del ataque del $\cdot OH$ cuya velocidad de reacción es representada por la constante de reacción de $10^{10}M^{-1}S^{-1}$, se convierte en una de las biomoléculas blanco de dicha especie (Oxilia, 2014) (Lunardelli & Oliveira, 2015).

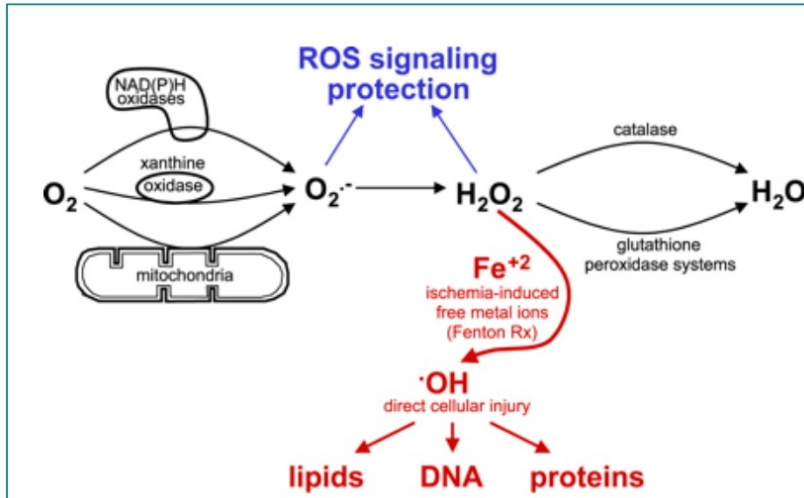


Figura 3. Metabolismo del oxígeno durante la isquemia. Imagen tomada de Becker, 2004.

4.2 Albumina sérica humana como biomolécula blanco de las ROS.

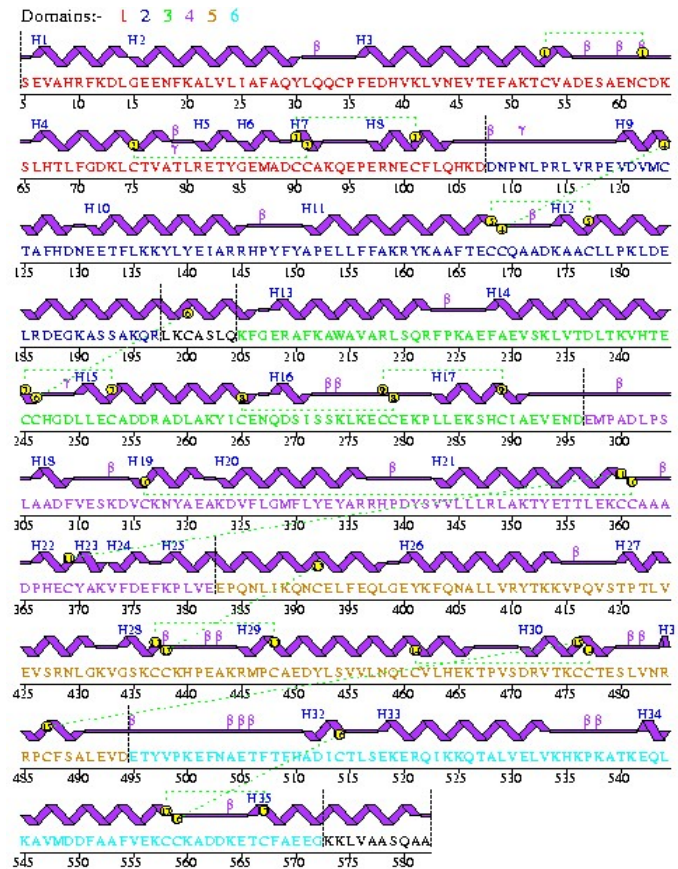
El daño sufrido por las macromoléculas dado el proceso oxidativo, puede dar lugar a un cambio conformacional de éstas y por lo tanto una pérdida o modificación de la función biológica. En presencia de oxígeno, los radicales libres provocan una fragmentación de la cadena peptídica en las proteínas (Höhn & König, 2013) (Lee et al., 2014). El daño que sufre el DNA a causa de un ataque oxidativo puede llevar a la modificación de bases nitrogenadas, y al presentarse la replicación de ese fragmento antes de su reparación (Nathan & Cunningham-Bussel, 2013), o cuando se da una reparación incorrecta del mismo, se presentará un proceso de mutación asociado con la manifestación de muchas patologías (Kanti et al., 2014). Por otra parte cuando un RL ataca una desoxirribosa del DNA, generalmente se produce la ruptura de la hebra. El DNA mitocondrial es más propenso a sufrir daño oxidativo que el DNA nuclear, gracias a su cercanía a la cadena de transporte mitocondrial (Lombide, 2014).

4.2.1 Caracterización de la albumina sérica humana

La albumina sérica humana (ASH) es una proteína plasmática de 585 aminoácidos (Figura 4A), con un peso molecular de 66 kDa, constituye el 60% de las proteínas totales y es sintetizada en el hígado. La ASH es una proteína monomérica globular, compuesta en un 67% por estructuras alfa hélice. Presenta tres dominios homólogos I, II y III (Figura 4 B) (He & Carter, 1992). Esta proteína tiene la capacidad única de unirse a una amplia diversidad de moléculas, entre ellas, ácidos grasos, metales de transición (Cu, Zn, Ni, Mn, Cd, Co, Pt entre otros), bilirrubina y fármacos como

Warfarina, Diazepam e Ibuprofeno (Rosenoer & Oratz, 2014)(Lee et al., 2014) (Sugio, Kashima, Mochizuki, Noda, & Kobayashi, 1999).

A



B

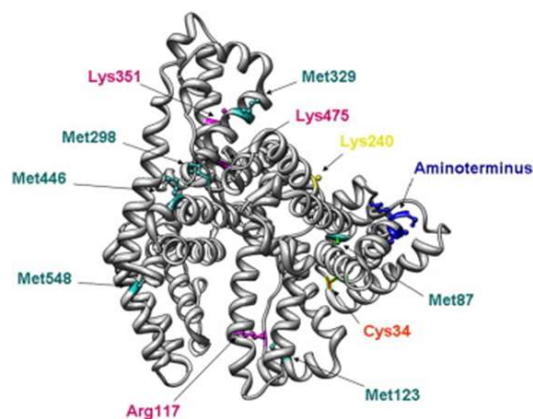


Figura 4 Modelo secuencia aminoácidos de la albumina sérica humana. Imagen tomada de Lombide, R. 2014

Se ha determinado, que en condiciones normales, la albúmina fija con alta afinidad cobre (Cu^{2+}) en su región amino terminal (N terminal), específicamente en la secuencia Aspártico-Alanina-Histidina-Lisina (Asp-Ala-His-Lys) (Figura 5A y 5B) (Dodsworth, & Woodrow, 1995). La modificación estructural de la albumina, disminuye la capacidad de fijación y transporte de dichos metales (Lee et al., 2014), ya que incluso se ha detectado escisión de los aminoácidos Asp-Ala en la región N-terminal de la ASH (Bar-Or, Curtis, Rao, Bampos, & Lau, 2001) (Lee et al., 2014). La determinación de fijación de metales por la albúmina, permite realizar un seguimiento del estrés oxidativo y de las diversas manifestaciones patológicas a consecuencia de este (Bar-Or et al., 2000).

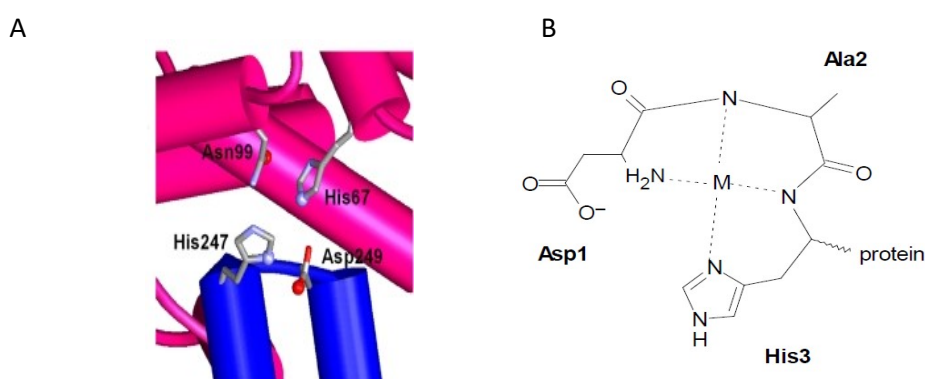


Figura 5. Modelo estructura tridimensional de la albumina sérica humana, unión de la parte amino terminal de la albumina a metales de transición. Imagen tomada de Lombide, R. 2014.

4.2.2 Reactividad región amino terminal de la albumina sérica humana

Los aminoácidos, tanto en su estructura monomérica, como las cadenas laterales de éstos en las proteínas son susceptibles a la oxidación por radicales $\text{OH} \cdot$ (Bar-Or, Bar-Or, Rael, & Brody, 2015). Este proceso oxidativo puede ser reversible o irreversible (Tabla 1), la oxidación irreversible de proteínas se da por medio de cuatro mecanismos: la carbonilación, la ruptura de enlaces peptídicos, la nitración y la formación de enlaces proteína-proteína (E R Stadtman, 1990) (Dean, Fu, Stocker, & Davies, 1997). Dichas modificaciones, están normalmente asociadas con la pérdida permanente de la función y pueden producir eliminación o acumulación de las proteínas dañadas. Las modificaciones reversibles normalmente se dan en cisteínas y pueden activar una función proteica o proteger al residuo de la oxidación (E R Stadtman, 1990) (Earl R Stadtman & Levine, 2000).

Tabla 1. Modificaciones reversibles e irreversibles de proteínas por oxidación. Adaptado de Berlett & Stadtman, 1997

Modificación por oxidación	Tipo	Consecuencia y / o función
Carbonilación	Irreversible	
Nitración	Irreversible	
Formación de enlaces proteína-proteína	Irreversible	Degradación o agregación de proteínas
Ruptura de enlaces peptídicos	Irreversible	
Glutacionilación	Reversible	Protección de cisteínas o regulación de función proteica
S-nitrosilación	Reversible	

En el proceso de oxidación irreversible de los aminoácidos se da la formación de diversos subproductos (Tabla 2). En el caso de la secuencia Asp-Ala-His-Lys, la región imidazol de la Histidina es blanco de las ROS, ésta es modificada a 2-oxohistidina, asparagina y ácido aspártico (Figura 6).

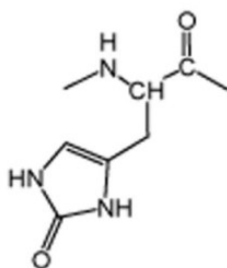


Figura 6. Estructura de 2-oxohistidina. Imagen tomada de Bridgewater & et al, 2007.

Se ha reportado que la Histidina en presencia de radicales $OH\cdot$, dona hidrógenos α , del grupo imidazol. Esto conlleva a la ruptura del enlace peptídico, y la liberación de un dipeptido cíclico en una reacción de oxido-reducción. En la figura 7 se muestra el modelo de la ruptura del enlace peptídico entre Ala e His. Esta reacción es catalizada por la pérdida de protones del grupo α -amino del Asp y la posible donación de protones al carbonilo del grupo imidazol de la His. El carácter electrofílico del carbonilo puede posiblemente ser mejorado por la donación de protones del imidazol de la His (B. Chan et al., 1995)

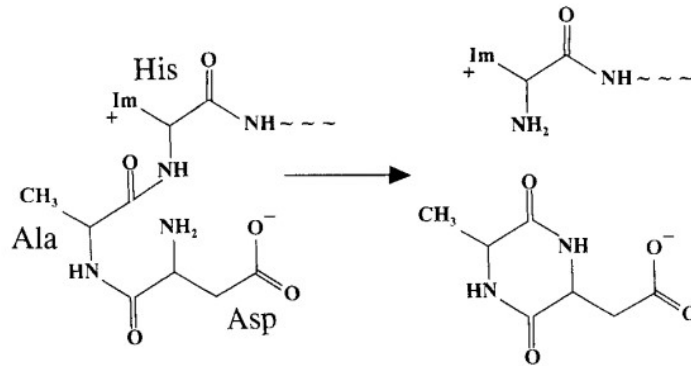


Figura 7. Modelo de reacción Histidina, Alanina y Asparagina N-terminal. Donación de hidrógenos alfa de la Histidina y posterior rompimiento entre Ala e His. Imagen tomada B Chan et al, 1995.

Tabla 2. Aminoácidos más susceptibles a oxidación. Productos de oxidación de algunos aminoácidos. Adaptado de Berlett & Stadtman, 1997

Aminoácidos	Productos de oxidación
Cisteína	Disulfuros, ácidos cistieícos.
Metionina	Sulfóxido de metionina
Triptófano	2, 4, 5, 6, y 7-hidroxitriptófano, nitrotriptófano, quinurenina, 3-hidroxiquinurenina, formilquinurina
Fenilalanina	2,3-dihidroxiifenilalanina, 2, 3, y4 hidroxifenilalanina
Tirosina	3,4-Dihidroxiifenilalanina, enlaces cruzados tirosina-tirosina, Tyr-O-Tyr, nitrotirosina.
Histidina	2-Oxohistidina, asparagina, ácido Aspártico
Arginina	semialdehído glutámico
Lisina	α aminoadípico semialdehído
Prolina	2-pirrolidona, 4 y 5-hidroxiprolina, ácido piroglutamilo, semialdehído glutámico
Treonina	ácido 2-Amino-3-cetobutírico

El proceso de ruptura del enlace péptido, ocasionado por la oxidación irreversible de aminoácidos, específicamente de la región N terminal, puede presentarse por dos vías: la vía diamida, o vías α –amidación. Tras la ruptura por la vía diamida (Figura 8a), el fragmento del péptido derivado de la región N-terminal de la proteína, posee una estructura diamida en el extremo C-terminal final (R1 y R2), mientras que el péptido derivado de la parte C-terminal de la proteína posee una estructura de isocianato en el extremo N-terminal (R3) (Earl R Stadtman & Levine, 2000).

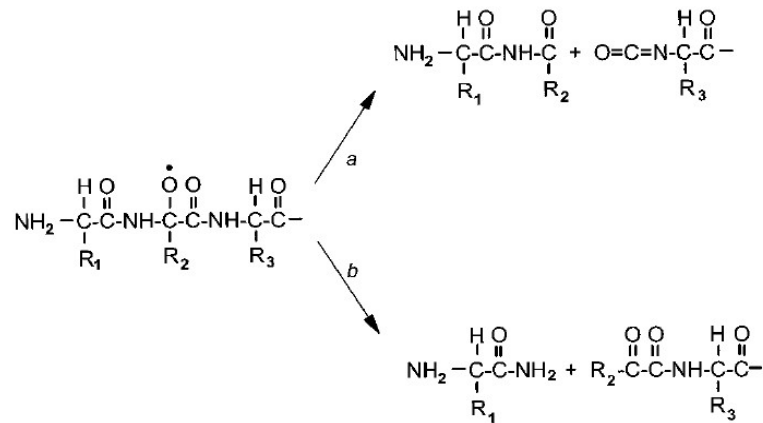


Figura 8. Ruptura del enlace peptídico por vías (a) diamida y (b) α -amidación. Imagen tomada de Stadtman, E. 1990

Por el contrario, tras la ruptura por la vía α –amidación (Figura 8b), el fragmento de péptido obtenido a partir de la región N-terminal de la proteína, posee un grupo amida en el extremo C-terminal, mientras que el residuo de aminoácido N-terminal del fragmento derivado de la porción C-terminal de la proteína existe como un derivado de N-acetoacil (E R Stadtman, 1990).

Para determinar el sitio específico de unión de metales de transición a la ASH, se plantea una metodología, en la que se simulan cambios en el N-terminal de la proteína que pueden explicar las modificaciones estructurales que inducen los ROS en el sitio de unión a cobalto (Bar-Or et al., 2001). En este proceso se sintetizaron péptidos con los aminoácidos 2 al 12 de la secuencia amino terminal de la ASH. Se demostró que los tres primeros aminoácidos, Asp-Ala-His, son esenciales para la fuerte unión del cobalto. La modificación del péptido N-terminal de ASH por medio de N-acetilación o la deleción de uno o más aminoácidos resulta en ion metálico no enlazado o libre en solución.(F. Yang, Zhang, & Liang, 2014).

4.3 Efectos metabólicos en la isquemia

La isquemia se caracteriza por la obstrucción en el suministro de sangre a un área local debido al bloqueo de los vasos sanguíneos que conducen a esta zona.

En alteraciones como la isquemia miocárdica aguda, infarto de miocardio y procesos de angina inestable, se cuenta con biomarcadores como la troponina T cardíaca (cTnT), y también la proteína C reactiva (PCR). Los niveles de estos biomarcadores son detectados en los eventos tardíos cuando ya se ha generado el irreversible proceso de necrosis celular. Ante este panorama, IMA se ha incorporado al panel diagnóstico dado que es detectada mucho antes del daño tisular dada la cinética del aumento de la ROS (Yerlikaya et al., 2014)(Dash, et al, 2014)(Seshadri Reddy, Sethi, & Gupta, 2016).

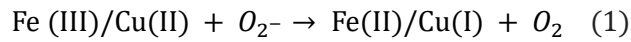
Después de un episodio isquémico, el tejido miocárdico puede recuperarse si se restaura el flujo sanguíneo en un intervalo de 15 a 20 minutos y, si no es detectada ninguna lesión estructural, es posible pensar que las células son capaces de mantener su integridad hasta dicho límite (Méndez, Rafaela, & González, 2010). Transcurrido este tiempo y con el consumo de todo el glucógeno celular, aparecen alteraciones estructurales, como el estiramiento excesivo de las miofibrillas (Sánchez, 2006).

También es evidente la presencia de lesiones en la membrana celular. Si se produce una reducción significativa de los compuestos de alta energía, necesarios para mantener el equilibrio iónico de la membrana, las células acumulan sodio y pierden potasio (Méndez et al., 2010) (Nilsson et al., 2003). Como consecuencia, se produce una entrada excesiva de iones cloruro que se acompaña de edema celular, llegando finalmente a la lisis y muerte de la célula (Kurian, Rajagopal, Vedantham, & Rajesh, 2016)(Piper, Meuter, & Schafer, 2003).

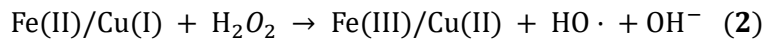
4.4 Producción de radicales libres frente al incremento de metales a nivel celular

En condiciones fisiológicas, el hierro no está disponible para la síntesis de radical $OH \cdot$ mediante la reacción de Haber-Weiss, sino que en su mayoría está unido a la ferritina (Kanti et al., 2014). En condiciones de isquemia, con la muerte celular, se libera hierro que sí contribuye a la producción de radical $OH \cdot$ (Kalogeris, Bao, & Korthuis, 2014). Además, la producción de radical $O_2 \cdot^-$ aumenta la disponibilidad de hierro al actuar sobre la ferritina (Manzur, 2012). De igual forma al verse incrementada la modificación de la albumina por la acción de radicales libres, y consecuentemente al incrementarse la presencia de Cu^{2+} libre, se dará paso a la sobreproducción de radicales $OH \cdot$. El

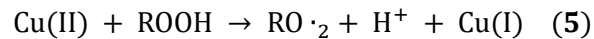
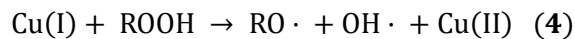
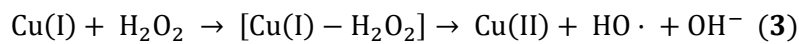
anión O_2^- reduce adicionalmente Fe (III) o los iones Cu (II) (u otros iones metálicos) de acuerdo con la reacción (1) (Bandyopadhyay, Das, & Banerjee, 1999):



Los iones metálicos en estados de oxidación reducidos son capaces de entrar en la descomposición catalítica de H_2O_2 (2) (Valko, Jomova, Rhodes, Kuča, & Musílek, 2016):



Los iones Cu (I) son catalizadores efectivos para la reacción de Fenton. En conjunto Cu (II) y Cu (I) son especies efectivas para descomponer hidroperóxidos orgánicos para formar peroxil y radicales alcoxilo según las reacciones (3)(4) Y (5) (Birben et al., 2012) (Valko et al., 2016).



Dicho mecanismo se puede establecer en la figura 9, en donde se evidencia la modificación de la albumina gracias a la contribución de los iones metálicos en la producción de $HO \cdot$:

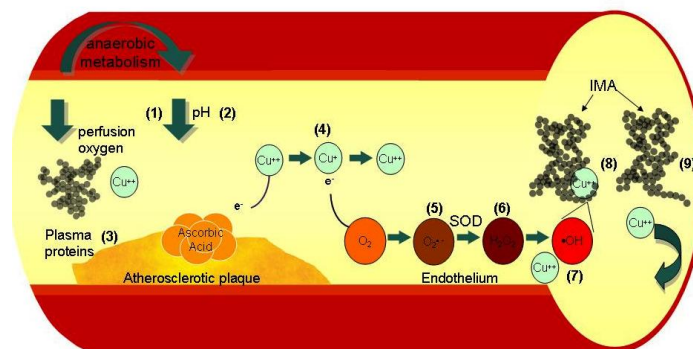


Figura 9. Mecanismo de la producción de albúmina modificada por isquemia, contribución de metales para la producción de radical hidroxilo. En presencia de ácido ascórbico, el Cu^{++} se convierte en Cu^+ a su vez, reacciona con O_2 para formar O_2^- . La Súper Óxido dismutasa llevará a cabo la producción de H_2O_2 , que en presencia de Cu^{++} o Fe^+ , experimenta la reacción de Fenton Formando $OH \cdot$. Imagen tomada de Gaze 2013.

4.5 Daño oxidativo a otras biomoléculas

4.5.1 Daño oxidativo a lípidos

Los ácidos grasos poli-insaturados son las biomoléculas más susceptibles a ser dañadas por los radicales libres (Guéraud et al., 2010). El ataque oxidativo de los radicales libres a los lípidos se conoce como peroxidación lipídica. Los radicales iniciadores de esta reacción son el radical hidroxilo, el peróxido, el alcóxido y el alquílico (Nimse & Pal, 2015). Los productos finales de este proceso de peroxidación lipídica son aldehídos, gases hidrocarbonatos y varios residuos químicos. El malondialdehído (MDA) es uno de los productos finales de este proceso de oxidación (Maldonado & Jiménez Nahúm, 2010).

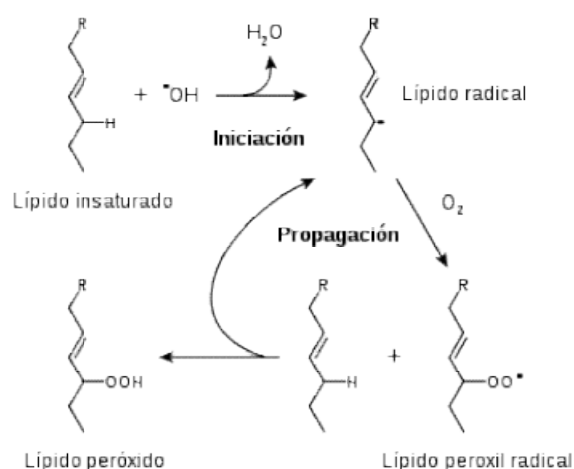


Figura 10. Daño oxidativo a lípidos, ataque de un radical libre a un ácido graso poliinsaturado.

Estos subproductos pueden alterar la actividad de fosfolipasas e inducir la liberación de ácido araquidónico, con la consiguiente formación de prostaglandinas y endoperóxidos. La reacción que se produce es una reacción en cadena, en la que el estímulo detonante inicial se amplifica, formándose multitud de especies reactivas activadas. De esta manera, se produce la oxidación de una gran cantidad de moléculas (Dean et al., 1997) (Bruno, 2015).

4.5.2 Daño oxidativo al ADN

El ADN también es susceptible de daño oxidativo en todos sus componentes. Son sobre todo los radicales $\text{OH}\cdot$ y $\text{O}_2\cdot^-$ los responsables principales de las alteraciones oxidativas en las bases del DNA (Bandyopadhyay et al., 1999). Las alteraciones que con más frecuencia se observan en el DNA en condiciones de estrés oxidativo son un incremento en sus niveles de fragmentación y

modificaciones oxidativas en las bases púricas y pirimidínicas (Hemnani & Parihar, 1998). El oxígeno también se puede adicionar al azúcar y generar un radical peroxil. Se producen alteraciones en la duplicación y la transcripción que explican la asociación entre la generación de ROS con la carcinogénesis y el envejecimiento (Gottlieb et al., 2016).

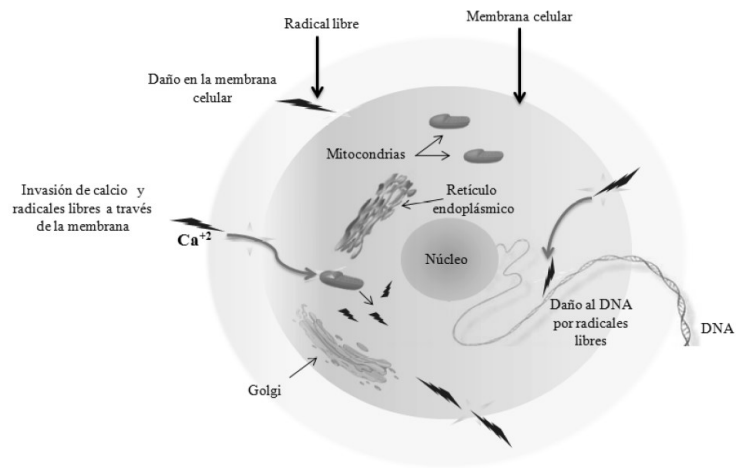


Figura 11. El daño celular es provocado principalmente por la peroxidación de lípidos de la membrana, permitiendo el paso de radicales libres y calcio, el cual provoca daño mitocondrial, liberando al medio intracelular más radicales libres, los cuales provocan una reacción en cadena, oxidando a su paso, carbohidratos, lípidos de membrana (mitocondrial, nuclear y de retículo) incluso el propio DNA. Imagen tomada de Maldonado & Jiménez 2010.

4.6 Troponina y proteína C reactiva

La troponina es un complejo proteínico regulador de la función contráctil del músculo estriado. Consta de 3 polipéptidos distintos: Troponina C, que fija el calcio; Troponina T, que liga el complejo troponina a la tropomiosina; y Troponina I, que es la subunidad inhibidora del complejo troponina-tropomiosina (Corona, Arellano, López, & Domínguez, 2015). Este complejo sirve para regular la interacción calcio-dependiente de actina y miosina, por eso juega un papel integral en la contracción muscular (Méndez et al., 2010). Cada una de las tres subunidades, que conforman la troponina, existe en 3 isoformas diferentes que son específicas del tipo de fibra muscular del que proceden (esquelético lento, rápido y cardíaco) (Metskas & Rhoades, 2016).

La troponina C es el componente sensor del Ca²⁺ y tiene dominios de alta y baja afinidad por este catión. En el músculo en reposo, los sitios de alta afinidad son ocupados por el Ca²⁺ mientras que los de baja afinidad están vacíos (Corona et al., 2015)(Cheng, 2016). Cuando el calcio es liberado del retículo sarcoplásmico, tras el estímulo nervioso provocado en la contracción, ocupa los sitios de baja afinidad produciéndose un cambio de conformación que es transmitido a los otros

componentes del complejo troponina y luego a la tropomiosina (Babuín & Jaffe, 2005).

La Troponina I, existe en tres formas moleculares distintas (isoformas) encontradas en fibras de músculo rápidas, fibras de músculo lentas y corazón (cTnI), esta última expresada tanto en aurículas como en ventrículos y siendo de mayor interés en el síndrome coronario agudo (SCA) (Bardají, 2005). La cTnI tiene 30 residuos extra en el extremo amino terminal y se libera precozmente al torrente sanguíneo después de un SCA; puede persistir en plasma durante, al menos, 5 a 7 días (Nørgaard et al., 2004).

La Troponina I y la Troponina T, que permanece presente en la sangre durante 10 a 14 días, pero es menos precoz y cardioespecífica que la Troponina C, están siendo muy usadas en la actualidad como marcadores de síndrome coronario de urgencia al ser liberadas por el tejido cardíaco (Sheehan & Zamora, 2016). Sin embargo, se ha implementado el uso de troponina de alta sensibilidad hscTn, con lo que es posible detectar niveles bajos de cTn, permitiendo también un diagnóstico más temprano (Figura 12) (Mahajan & Jarolim, 2011).

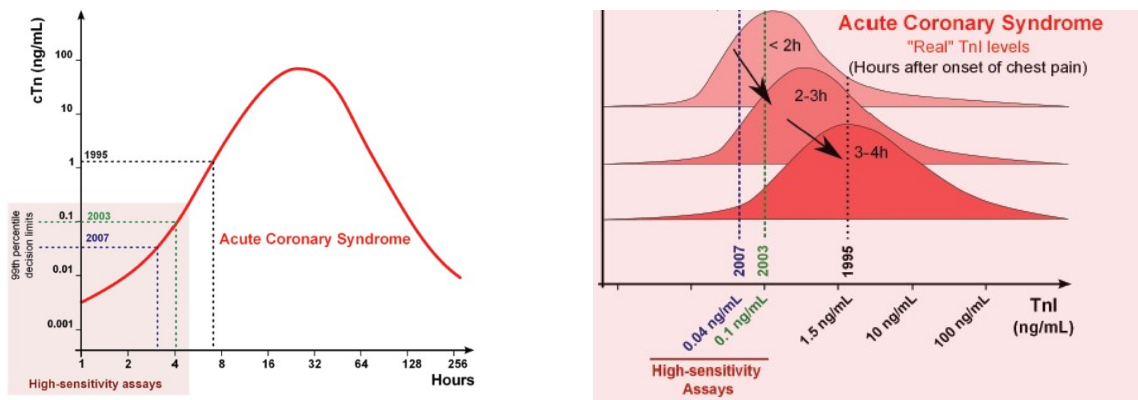


Figura 12. Evolución de los ensayos de troponina cardíaca (cTn) y sus puntos de corte diagnósticos. Imagen tomada de Mahajan & Jarolim, 2011.

Por otro lado, la proteína C reactiva es sintetizada por los hepatocitos, es una proteína de 115 KDa Dalton. En presencia del ión calcio, dicha proteína podría formar un complejo con el polisacárido pneumocócico C (Manzur, Alvear, & Alayón, 2011) (Windgassen, Funtowicz, & et al, 2011).

Una variedad de estímulos incluyendo la infección, el trauma importante, la cirugía y condiciones inflamatorias crónicas, puede dar lugar a una mayor producción de PCR. Después de un estímulo, las concentraciones en plasma aumentan hasta duplicarse en 5-8 horas. Como proteína reactante de fase aguda que es, puede aumentar en 100 a 1000 veces su valor inicial en procesos

inflamatorios e infecciosos (Ramamoorthy, Nallasamy, Reddy, Esther, & Maruthappan, 2012) (Windgassen et al., 2011). La PCR ultrasensible que utiliza rangos de medida de concentración muy bajos, se está empleando como marcador bioquímico de la inflamación en las lesiones de las arterias coronarias, en prevención primaria y secundaria (Ramos, Pellanda, Gus, & Portal, 2009) (Arregoces, Uriza, Porras, Camargo, & Morales, 2014).

4.7 Cinética de la albúmina modificada por isquemia

De acuerdo con lo expuesto en la revisión científica, se ha podido definir la cinética de la producción de IMA. Hay un rápido aumento en los valores de IMA con una caída posterior a las 6 horas y regreso a la normalidad en 24 horas, cuando el evento isquémico es corregido. El aumento en IMA se produce antes de la detección de la troponina cardíaca y los péptidos natriuréticos (Figura 13) (Mehta et al., 2015).

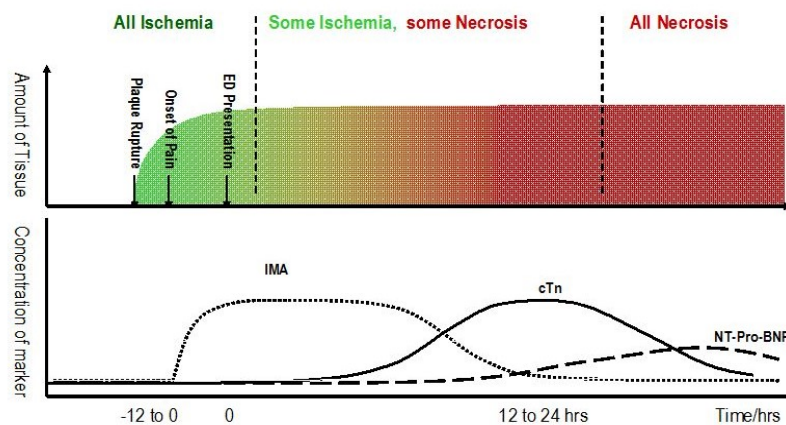


Figura 13. Cinética de la albúmina modificada por isquemia (IMA, línea punteada) y otros marcadores cardíacos, troponina cardíaca (cTn, línea continua) y péptido natriurético (NT pro BNP, línea discontinua) [panel inferior], en relación con la extensión y el momento de daño al tejido [panel superior]. Imagen tomada de Gaze, 2013.

El poder detectar IMA en cuestión de minutos después del evento isquémico y que permanezca elevada durante varias horas, antes del desarrollo de la necrosis miocárdica permitió darle validez dentro del panel de valoración cardíaca (Ellidag, Bulbulla, et al., 2013). De esta forma se ha podido concluir, que al determinar IMA se puede distinguir a los pacientes con altos índices de estrés oxidativo de manera temprana (Yerlikaya et al., 2014). IMA es medible antes de que se presente los daños irreversibles tisulares, además puede servir como una herramienta de diagnóstico útil en las salas de emergencias para la evaluación de la isquemia cardíaca, teniendo

en cuenta que este biomarcador aumenta la sensibilidad diagnóstica de las pruebas cardiacas convencionales (Gaze, 2013).

4.8 Identificación de albumina modificada por la isquemia

Se han desarrollado diferentes metodologías para la detección y cuantificación de IMA, como son los colorimétricos, de inmunodetección y fluorométricos. (Bar-Or et al., 2001) (Cengiz et al., 2015)

4.8.1 Protocolo de identificación de albumina modificada por la isquemia por métodos colorimétricos.

La reducción de la afinidad de la ASH por los metales de transición entre ellos el cobalto (II) a causa de los cambios estructurales en la proteína, ocasionada por los ROS, ha permitido el desarrollo de protocolos para detección y cuantificación de IMA. El más utilizado es la medida indirecta de IMA por la cuantificación del Co^{2+} libre no unido a la proteína (Figura 14) (Bar-Or et al., 2001). La prueba se basa en el principio de que una muestra que contiene IMA unirá menos cobalto y por lo tanto tendrá más iones de cobalto en solución. El ion es medido en presencia de Ditioeritrol a 470 nm, y se registran valores de IMA en unidades de Absorbancia (ABSU) (Ashok Kumar & Subramanian, 2016).

En este ensayo, IMA se normaliza utilizando diferentes concentraciones de CoCl_2 que van desde 10,0 a 40,0 $\mu\text{g CoCl}_2 / \text{mL}$. Se ha determinado que una unidad IMA se es equivalente a un μg de Co^{2+} libre en la mezcla de reacción por mililitro de muestra de suero (Gurumurthy et al., 2014). Actualmente el ensayo de IMA, se lleva a cabo por kits comerciales de colorimetría entre ellos el ensayo de fijación de cobalto por albumina o test ACB (de sus siglas en inglés Albumin Cobalt Binding) aprobado en 2003 por la FDA (Lee et al., 2014). (FDA Consum, 2003) El procedimiento inicia con la recolección de una muestra sanguínea, dentro de la primera hora de admisión antes de iniciar tratamiento, las muestras se centrifugan de forma rutinaria durante 15 min a 2000 rpm y se realiza el proceso de separación del suero (Chawla & et.al, 2016)

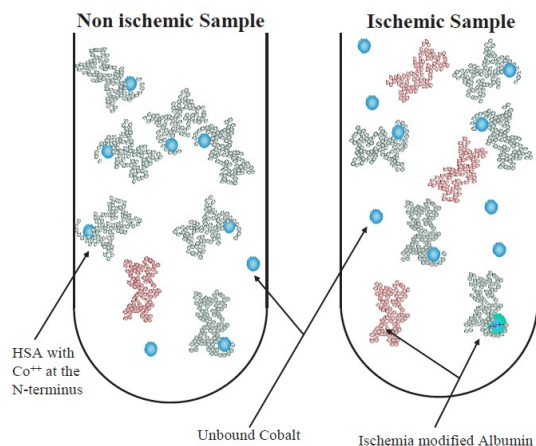


Figura 14. Esquema de unión de Cobalto a la Albumina Sérica Humana. Imagen tomada de Gaze, 2013.

Dentro de las desventajas del método colorimétrico ACB, se encuentran las interferencias de materiales endógenos de las muestras de sangre. En los estudios acerca de la prueba se determina que los ácidos grasos libres (FFA de sus siglas en inglés free fatty acids) interfieren con los resultados de IMA en el ensayo de ACB (Amirtharaj et al., 2008), además de ser una prueba indirecta y que genera altos contenidos de desechos. En la actualidad, no existe medidas estandarizadas en este método lo que hace difícil la comparación entre los resultados obtenidos en los diferentes estudios.(Jiang et al., 2015)

4.8.2 Protocolo de identificación de albumina modificada por la isquemia, mediante inmunodeteccion

En la metodología por inmunodeteccion mediante ELISA (de sus siglas en inglés Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay), un antígeno inmovilizado se detecta mediante un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable (Hokama, 2007). Para la determinación de IMA, se ha implementado el uso de la técnica ELISA competitivo (Figura 15). Este método utiliza un anticuerpo monoclonal para reconocimiento de la región de la albúmina modificada por los radicales libres, y es de mayor sensibilidad y especificidad que el protocolo ACB (Cengiz et al., 2015).

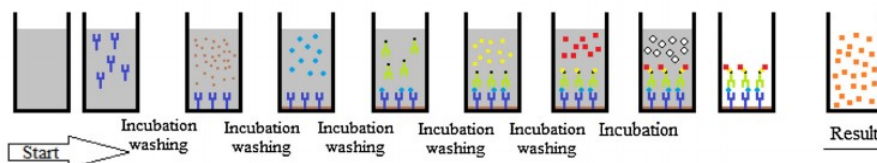


Figura 15 Imagen tomada de Aydin, 2015.

En este método, la superficie de los pozos de la placa de ELISA, se recubren con el anticuerpo específico de IMA. La muestra de suero e IMA marcada con biotina (y de una concentración definida) se colocan simultáneamente en la placa. La competencia de estas dos moléculas para unirse al anticuerpo específico previamente puesto en la placa dirigirá el valor de IMA en el suero. Después de lavar las placas y añadir avidina conjugada a peroxidasa de rábano (HRP) que corresponde al sustrato enzimático, se genera la coloración de la solución que es medida en el espectrofotómetro a 450 nm. Existe una proporción inversa entre la concentración de IMA en el suero y la intensidad de coloración resultante (Aydin, 2015).

El método ELISA ya se encuentra estandarizado, lo que ofrece una ventaja frente a otros métodos mencionados, la cantidad de muestra necesaria es mínima, es específico, sensible y además necesita menos volúmenes de reactivos químicos. Frente a sus desventajas se encuentran los índices de contaminación por el uso de materiales plásticos, asimismo se deben hacer altas diluciones de la muestra (dilución de 1:5000 en el Kit Cloud-Clone Corp específicamente) lo que aumenta la incertidumbre en la medida.

4.8.3 Protocolo de identificación de albumina modificada por la isquemia mediante espectroscopia de fluorescencia de rayos X.

El método de fluorescencia de rayos X (XRF de sus siglas en inglés X-ray fluorescence), ha sido implementado en aéreas de la industria y el monitoreo ambiental, pero actualmente se ha incursionado también en aéreas de reconocimiento y determinación de biología molecular como ácidos nucleicos y proteínas.

El XRF en la determinación de IMA, es un proceso rápido y libre de interferencias, se cuantifica la ASH total en suero utilizando un método de Inmunoensayo sándwich, la albumina sérica humana intacta (ASHi de sus siglas en inglés intact Human Seric Albumin) se determina usando una espectroscopia XRF, midiendo la intensidad de Co (II) unido a ASHi. La concentración de IMA se determina automáticamente en 30 min calculando la diferencia entre ASH total e ASHi (Figura 16) (Jiang et al., 2015).(Luo et al., 2014)

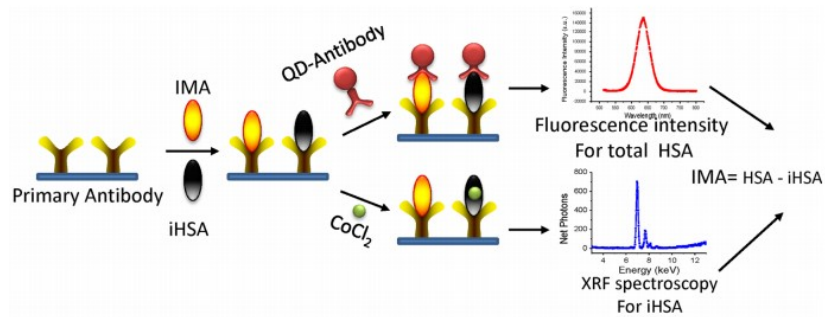


Figura 16 Esquema del ensayo XRF propuesto. Flujo de trabajo y principio de detección del ensayo Q-XRF. Imagen tomada de Luo et al 2014.

Se prepara una muestra de ASH marcada con biotina, estreptavidina. Se mezcla y se incuba con agitación suave. El complejo se concentra y se purifica antes de la medición de la absorbancia y la fluorescencia. Se realiza un ensayo (ensayo de Bradford que mide la concentración de proteínas en solución) para calcular la eficacia de acoplamiento determinando la cantidad de anticuerpo ASH desacoplado. La concentración de ASH conjugada se determina mediante la resta de la cantidad de ASH desacoplada del número total de ASH utilizado en el ensayo.

A pesar de ser un ensayo en donde se utilizan volúmenes pequeños tanto de muestra como de reactivos químicos, de ser muy sensible y de no producir grandes cantidades de contaminantes, sigue siendo un método indirecto para la determinación de IMA (Jiang et al., 2015). (Luo et al., 2014)

5 METODOLOGÍA

Este trabajo se desarrolló bajo los siguientes parámetros: (i) Elaboración de un plan de trabajo. (ii) Revisión bibliográfica general a través de la consulta de posibles fuentes de información primaria: Se realizó una búsqueda exhaustiva, que permite el acercamiento lo más posible al total de la literatura publicada sobre el tema, primordialmente las publicaciones entre 2012-2016, sin desconocer la validez de los artículos pioneros del tema. (iii) Selección y acceso a los documentos específicos, empleando bases de datos: NCBI, SCOPUS, SCIENCE DIRECT, EMBASE, Sinab y Google Scholar. (iv) Primera evaluación. Análisis de los documentos seleccionados y clasificación preliminar de los documentos basándose en su contenido. (v) Segunda evaluación. Selección y extracción de la información más relevante. Finalmente se verificaron los conceptos de manera individual. (vi) Síntesis de la información, generando jerarquía de títulos para el manuscrito. (vii) Generación del manuscrito.

5.1 Parámetros de consulta y selección de la información

Durante la revisión bibliográfica, a través de las bases de datos, se cumplieron los siguientes parámetros de búsqueda:

5.1.1 Bases de datos consultadas:

NCBI, SCOPUS, SCIENCE DIRECT, EMBASE, Sinab y Google Scholar.

5.1.2 Especificación de búsqueda

Se realizó la revisión de los artículos publicados sobre IMA, sin utilizar filtros de fechas, con el fin de determinar el avance del tema, a través del tiempo. Posteriormente la información se sintetizó de acuerdo los siguientes parámetros:

Radicales libres, estrés oxidativo y DM2. La selección de artículos se focalizó en la producción de radicales libres de manera endógena y exógena, y su relación con el estrés oxidativo tisular. La base de datos PubMed (www.ncbi.nlm.nih.gov), reporta 25796 artículos de estrés oxidativo que cumplen con el rango de tiempo 2013-2016. Se encontraron 8619 publicaciones específicas de estrés oxidativo y su relación con DM2

Caracterización de la albumina sérica humana y modificación específica de la secuencia Aspártico-Histidina-Alanina-Lisina. La búsqueda de los artículos sobre la albumina, se enfocaron en la secuencia N-terminal y la reactividad de ésta frente a situaciones de oxido-reducción. Se encontraron 7980 artículos. Las modificaciones de la albumina se asociaron a diferentes patologías.

Daño oxidativo a biomoléculas: Para lípidos y ADN se encontraron 353 artículos que hacen referencia al daño oxidativo

Albumina modificada por la isquemia como biomarcador: Se reportaron 351 artículos dentro del rango temporal establecido, y específicamente para la DM2 se encuentran 178 publicaciones.

Dentro de la revisión bibliográfica, IMA es determinada en un número concertado de pacientes (por encima de 70 pacientes) con rangos de edades diferentes, y quienes han presentado complicaciones tales como nefropatía, retinopatía, o que ingresaban a sala de urgencias con alguna de las complicaciones características de la DM2. De igual forma se realiza la determinación de albumina en pacientes control (sanos) (Chawla & et.al, 2016). Además de IMA, se determina proteína C reactiva (PCR), Troponina sensible (hs-cTnT), Malondialdehído (MDA), colesterol, lipoproteína de alta densidad (HDL), triacilglicerol y creatinina sérica (Pérez Surribas et al., 2009)

Finalmente después de la consideración de artículos con coincidencia al parámetro de búsqueda, se realizó la selección y síntesis de 107 artículos; de estos el 94% se encuentran en idioma Inglés y el 6% en Español.

Diabetes Mellitus Tipo 2: Se reportaron 7257 artículos relacionados a la DM2, y las diferentes patologías relacionadas a ella, específicamente 2122 son referentes al daño oxidativo y su relación con la DM2.

5.2 Análisis de impacto de las revistas científicas

Como parámetro final se valoró el impacto científico de las revistas consultadas según la indexación fijada por Colciencias (*A1, A2, B y C*), para aquellas revistas extranjeras que hacen parte de los índices bibliográficos citacionales del WoS-JCR o Scopus (SJR), y el cuartil en el que se encuentren. Las revistas consultadas para la elaboración del presente manuscrito se clasifican de la siguiente manera según Colciencias (tabla 5):

Tabla 3. Clasificación de las revistas consultadas según Colciencias.

CLASIFICACIÓN	REVISTAS
<p style="text-align: center;">A1 Enero a Diciembre 2015</p>	<p><i>Revista de La Facultad de Medicina, Clinica Chimica Acta, Critical Care Medicine, Biomarkers : Biochemical Indicators of Exposure, Response, and Susceptibility to Chemicals, Cardiovascular Research, Journal of the American Society for Mass Spectrometry, Free Radical Biology and Medicine, BMC Medicine, Chemical Reviews, Biotecnología Aplicada, Nature, Journal of Proteomics, Molecular Aspects of Medicine, Diabetes Care, Journal of Gastroenterology and Hepatology, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, Circulation, Revista Cubana de Farmacia, Journal of Molecular Biology, Clinical Chemistry, Nature Reviews Immunology, Heart, Cellular Signalling, Molecular Cell, Science of The Total Environment, Archives of Toxicology, Annals of the New York Academy of Sciences, Diabetes/Metabolism Research and Reviews.</i></p>
<p style="text-align: center;">A2 Enero a Diciembre 2015</p>	<p><i>Journal of Clinical and Diagnostic Research, Current Science, Redox Biology, Revista Espanola de Cardiologia Suplementos, Internal Medicine, The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine, Gut and Liver, Free Radical Research, Indian Journal of Clinical Biochemistry, Indian Journal of Physiology and Pharmacology, Chemico-Biological Interactions, Biomarkers, Revista Española de Cardiología.</i></p>
<p style="text-align: center;">B Enero a Diciembre 2015</p>	<p><i>British Journal of General Practice, Protein Engineering.</i></p>
<p style="text-align: center;">C Enero a Diciembre 2015</p>	<p><i>European Journal of Biochemistry, Revista de Ciencias Médicas La Habana, Elsevier, Biomoleculas.</i></p>

Dentro de las revistas consultadas, 24 no se encuentran en la clasificación propuesta por Colciencias. De ellos 5 artículos son de publicación en revistas anteriores al año 1998; y 6 son documentos oficiales.

5.3 Metodología implementada en el proyecto “Biomarcadores de estrés oxidativo y control glicémico en pacientes con diabetes mellitus tipo 2”

La segunda etapa, incluyó el análisis de los resultados obtenidos en la valoración de IMA como biomarcador de estrés oxidativo en el proyecto “Biomarcadores de estrés oxidativo y control glicémico en pacientes con diabetes mellitus tipo 2”, financiado por la División de Investigación Sede Bogotá de la Universidad Nacional de Colombia. En el proyecto se analizó la valoración de IMA con la relación de control glicémico de los pacientes, el índice de masa corporal y los análisis de control metabólico. La detección de IMA se realizó por inmunodetección mediante ELISA competitiva. Dentro del análisis de las pruebas paraclínicas se incluyeron la hemoglobina

glicosilada (HbA1c), glicemia basal (mg/dl), proteína C reactiva, triglicéridos (mg/dl), colesterol total (mg/dl), LDL (mg/dl), HDL (mg/dl), creatinina (mg/dl) y microalbuminuria (mg/l) (Calderón et al., 2016). El estudio fue realizado a 95 pacientes diabéticos tipo 2 del servicio médico de la Universidad Nacional de Colombia (UNISALUD) y el servicio de extensión de la División de Lípidos y Diabetes de la Facultad de Medicina.

6 RESULTADOS Y ANÁLISIS

La revisión bibliográfica incluyó un total de 243 artículos que coincidían con uno o más criterios de búsqueda, a medida que se requería mayor coincidencia, se redujo el total de los artículos a 107, que son los que contiene el manuscrito. Dentro de la clasificación que hace Colciencias, el 72% de las revistas se encuentran en A1, el 18% se clasifican en A2, 3% se ubican en la clasificación B, y el 7% en clasificación C. Además de la totalidad de artículos, el 39% son específicos para el biomarcador IMA.

6.1 Determinación de IMA en pacientes con diferentes patologías

Para la determinación de IMA en pacientes con diferentes patologías asociadas al incremento de estrés oxidativo, se exponen los resultados de cuatro artículos de la totalidad de los artículos consultados (Tabla 6).

Tabla 4. Artículos determinación IMA diferentes patologías.

ARTÍCULOS	CARACTERÍSTICAS
<p>Artículo 1</p> <p><i>Is ischemia modified albumin a disease activity marker for inflammatory bowel diseases?</i></p>	<p>Revista: Journal of Gastroenterology and Hepatology. Autores: Mustafa Kaplan, Mahmut Yuksel, Ihsan Ates, Zeki Mesut Yalin Kilic, Hasan Kilic, Ufuk Baris Kuzu y Ertugrul Kayacetin. Año de publicación: 2016</p>
<p>Artículo 2</p> <p><i>Serum ischemia-modified albumin levels at diagnosis and during treatment of late-onset neonatal sepsis.</i></p>	<p>Revista: Journal Matern Fetal Neonatal Med Autores: Humeyra Yerlikaya, Sevil Kurban, Idris Mehmetoglu, Ali Annagur, Huseyin Altunhan, Ekrem Erbay, y Rahmi Ors. Año de publicación: 2014</p>
<p>Artículo 3</p> <p><i>Ischemia-modified albumin as an oxidative stress biomarker in early pregnancy loss.</i></p>	<p>Revista: The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine ISSN. Autores: Huseyin Cengiz, Hediye Dagdeviren, Ammar Kanawati, Sema Suzen Çaypinar, Ali Yesil, Murat Ekin & Levent Yasar. Año de publicación: 2015</p>
<p>Artículo 4</p> <p><i>Evaluation of the role of ischemia modified albumin as a new biochemical marker for differentiation between ischemic and hemorrhagic stroke.</i></p>	<p>Revista: Alexandria Journal of Medicine Autores: Mohamed Samy Gad a, Nermeen Hosam El-Din Zakaria b, Nany Hassan Abu Al-Makarim Elgayar. Año de publicación: 2015.</p>

6.1.1 Is ischemia modified albumin a disease activity marker for inflammatory bowel diseases?

La población de estudio de este reporte estuvo la constituyó 168 voluntarios. De ellos 68 fueron pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (IBD, de sus siglas en inglés Inflammatory bowel disease); 35 pacientes con colitis ulcerosa (UC, por sus siglas en inglés ulcerative colitis) y 33 pacientes con enfermedad Crohn (CD, por sus siglas en inglés disease Crohn). Fueron incluidos 65 voluntarios sanos. La medición de IMA se realizó con kit ELISA (Kaplan et al., 2016).

Las características demográficas se exponen en la tabla 7, no hubo diferencia entre edad, sexo e índice de masa corporal entre los grupos de estudio.

Tabla 5. Características demográficas y hallazgos de laboratorio de las poblaciones estudiadas. Tomado de Kaplan et al., 2016.

Variables	Control (n = 64)	IBD			P ^a	P ^b	P ^c	P ^d
		All patients n (68)	UC n (35)	CD n (33)				
Gender, n (%)								
Male	28(43.8)	30(44.1)	16(45.7)	14(42.4)	NS	NS	NS	NS
Age (years)	42.4 ± 13.8	42.8 ± 14.9	43.5 ± 10.5	42.1 ± 16.6	NS	NS	NS	NS
BMI (kg/m ²)	27.1 ± 5.0	26.3 ± 4.8	26.1 ± 4.9	26.5 ± 4.9	NS	NS	NS	NS
WBC (×10 ³ μL)	7040.4 ± 1400.4	7955.5 ± 2822.4	8190.1 ± 2200.4	7700.5 ± 1450.7	<0.001*	NS	<0.001*	0.032*
Hemoglobin (g/dl)	12.5 ± 1.4	13.1 ± 2.5	13.4 ± 2.2	12.8 ± 1.9	NS	NS	NS	NS
Platelet (×10 ³ μL)	250.3 ± 68.9	290.8 ± 93.8	300.9 ± 94.1	281.4 ± 93.4	<0.001*	<0.001*	<0.001*	0.011*
AST (IU/L)	22.0(7.0)	19.5(8.3)	20.3(8.0)	19.0(8.0)	NS	NS	NS	NS
ALT (IU/L)	18.0(12.0)	16.0(15.5)	17.0(13.0)	15.0(13.0)	NS	NS	NS	NS
Total protein (g/L)	7.1 ± 0.4	7.2 ± 0.7	7.3 ± 0.5	7.1 ± 1.3	NS	NS	NS	NS
Albumin (g/L)	4.5 ± 0.3	4.0 ± 0.3	4.1 ± 0.4	3.9 ± 0.5	<0.001*	NS	<0.001*	<0.001*
ESR (mm/h)	11.2(10.0)	19.9(25.5)	25.4(27.0)	16.0(17.0)	<0.001*	0.048*	<0.001*	0.014*
CRP (mg/L)	1.6(4.0)	4.2(8.2)	4.9(14.5)	3.9(5.6)	<0.001*	0.042*	<0.001*	0.013*
EAI	—	7(8)	7(8)	—	—	—	—	—
CDAI	—	150(200)	—	150(200)	—	—	—	—
IMA (ng/mL)	21.8(15.8)	37.7(40.5)	42.1(49.5)	36.4(22.1)	0.006*	0.041*	0.001*	0.012*

Los resultados indican que en pacientes con IBD, UC y CD, los niveles de IMA fueron significativamente más altos comparado con el grupo control, 37,7ng/mL vs 42,4 ng/mL vs 36,4 ng/mL frente a 21,8 ng/mL, respectivamente. En la figura 17, se muestra específicamente la comparación entre los datos de IMA, obtenidos entre el grupo control y los pacientes que refieren IBD, evidenciándose valores significativamente más altos en pacientes IBD

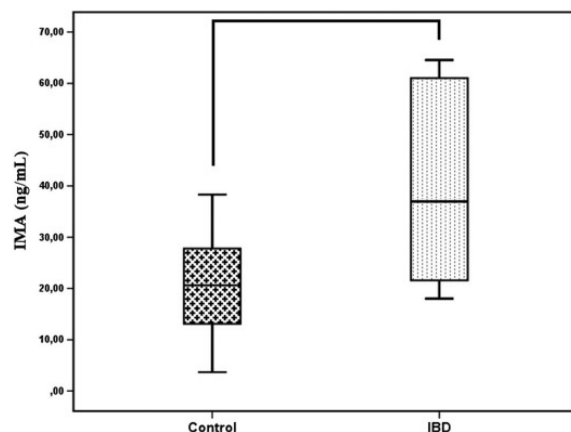


Figura 17. Comparación de los niveles de IMA entre los grupos control y con enfermedad inflamatoria intestinal. Tomado de Kaplan et al., 2016.

Este es el primer estudio en reportar que los niveles de IMA son mayores en la enfermedad inflamatoria de intestino respecto a un grupo control. Además se cataloga a IMA como un biomarcador de predicción, relacionado con la actividad de la enfermedad. De acuerdo con estos resultados, es posible decir que IMA, en la enfermedad inflamatoria de intestino podría estar relacionada con la patogénesis de la enfermedad y se correlaciona con la gravedad de la misma (Kaplan et al., 2016).

6.1.2 Serum ischemia-modified albumin levels at diagnosis and during treatment of late-onset neonatal sepsis.

El estudio se realizó en pacientes prematuros entre los 7-28 días de edad, hospitalizados con un diagnóstico de sepsis tardía en la Unidad de Cuidados Intensivos de Recién Nacidos de la Facultad de Medicina Necmettin Erbakan University. Fueron incluidos en el estudio 33 bebés prematuros con Sepsis y 21 controles prematuros sanos. El nivel de IMA se midió mediante un ensayo colorimétrico ACB, basado en la medición de cobalto no unido después de la incubación con el suero del paciente (Yerlikaya et al., 2014).

Como se observa en la tabla 8, el recuento de glóbulos blancos, PCR, PCT, IMA y IMA ajustado fueron significativamente mayores en la sepsis en el grupo, antes del tratamiento ($p < 0,001$ para los otros parámetros, $P < 0,01$ para IMA, y $p < 0,05$ para IMA ajustado) en comparación con el grupo control. Mientras, la albúmina sérica ($P < 0,001$) y la bilirrubina total ($P < 0,01$) fueron significativamente mayores, menos en el grupo de sepsis antes del tratamiento en comparación

con el grupo control. Además, la PCR en suero ($P < 0,01$) y PCT ($p < 0,005$) fue significativamente mayor en el grupo de sepsis después del tratamiento en comparación con el grupo de control. En la comparación de todo el grupo, el recuento de los glóbulos blancos, PCR, PCT, bilirrubina total, IMA e IMA ajustado fueron significativamente mayores en el grupo de sepsis antes del tratamiento (Yerlikaya et al., 2014).

Tabla 6. Hallazgos de laboratorio en el grupo de sepsis antes y después del tratamiento y los grupos de control: ICRP, proteína C reactiva; PCT, procalcitonina; AST, aspartato aminotransferasa; ALT, alanina aminotransferasa; IMA, albúmina modificada por isquemia, Antes del tratamiento de sepsis en comparación con el grupo control; * p , después del grupo de sepsis de tratamiento. Tomado de Yerlikaya et al., 2014.

	Sepsis group		Control group	* p	** p
	Before treatment	After treatment			
White blood cell count (/mm ³)	17393.0 ± 9665.3	10787.0 ± 2218.4	9906.2 ± 3087.8	<0.001	0.265
CRP (mg/L)	33.77 ± 14.18	3.99 ± 1.9	2.61 ± 1.4	<0.001	0.005
PCT (ng/mL)	44.05 ± 31.6	0.11 ± 0.1	0.04 ± 0.03	<0.001	0.027
AST (U/L)	44.54 ± 15.2	41.12 ± 14.7	41.52 ± 13.5	0.450	0.918
ALT (U/L)	31.42 ± 15.2	32.18 ± 14.7	28.14 ± 12.7	0.398	0.292
Albumin (g/dL)	3.04 ± 0.3	3.68 ± 0.2	3.58 ± 0.3	<0.001	0.195
Total bilirubin (mg/dL)	4.46 ± 3.0	2.35 ± 1.6	2.72 ± 1.2	0.005	0.351
Direct bilirubin (mg/dL)	0.39 ± 0.2	0.26 ± 0.1	0.36 ± 0.2	0.604	0.071
IMA (ABSU)	1.47 ± 0.25	1.25 ± 0.25	1.23 ± 0.36	0.016	0.812
Adjusted IMA (ABSU)	1.47 ± 0.35	1.26 ± 0.25	1.23 ± 0.37	0.031	0.804

Los resultados del presente estudio indican que los niveles séricos de IMA aumentan en el grupo de sepsis en comparación con el grupo control. Además, este es el primer informe que demuestra la disminución de los niveles séricos de IMA después del tratamiento en el grupo de sepsis.

Además, se ha encontrado una correlación positiva entre los niveles séricos de PCR e IMA en el grupo de sepsis antes del tratamiento.

La concentración de PCT comenzó a elevarse en los pacientes dentro de las 4 h después de la exposición a la endotoxina bacteriana, y alcanzó un máximo de 6-8 h, y se redujo a niveles normales después de recibir el tratamiento. De hecho, se observa la disminución de la PCT sérica y los niveles de IMA después del tratamiento en este estudio. Además, esta correlación que se encuentra en el grupo de sepsis antes del tratamiento no se encuentra en el grupo de control y el grupo de sepsis después del tratamiento.

En conclusión, los niveles séricos de IMA pueden ser útiles en la sepsis neonatal de aparición tardía, tanto en el momento del diagnóstico y después de la terapia. De acuerdo a la información suministrada y la consultada, se sabe que este es el primer informe sobre la evaluación del diagnóstico de la enfermedad y después de la terapia usando los niveles séricos de IMA, y se

precisa, según los autores necesitan más estudios para confirmar los resultados en grupos más grandes de pacientes.(Yerlikaya et al., 2014).

6.1.3 Ischemia-modified albumin as an oxidative stress biomarker in early pregnancy loss.

En el estudio del artículo 3, se incluyen un total de 180 mujeres. Los pacientes se dividieron en tres grupos. Cada grupo con 60 participantes. El grupo *I* incluyó mujeres embarazadas sanas atendidas para revisión prenatal, el grupo *II* mujeres internadas para dilatación y atención por ausencia de actividad cardiaca fetal. Dos de estos grupos eran mujeres que estaban embarazadas en su primer trimestre (6-14 semanas de gestación). Por último, el grupo *III* incluía mujeres sanas no embarazadas (Cengiz et al., 2015). Las características de los grupos estudiados, tales como edad, semana gestacional, albumina en sangre, y los valores de IMA, según las diferentes situaciones, se exponen en la tabla 9. En este estudio se utiliza el método de inmunoensayo ELISA. El índice IMA se calculó utilizando la siguiente ecuación

$$((\text{Índice IMA} = \text{concentración de albúmina sérica (g / dl} \times 23 + \text{IMA (U/ml)} - 100)).$$

La corrección de las concentraciones de albúmina es especialmente esencial en poblaciones en las que se han descrito variaciones en los valores referencia de la proteína como las mujeres embarazadas, casos extremos de desnutrición. Durante el embarazo, se presentan cambios que incluyen la disminución de la concentración de la albúmina plasmática en relación con la expansión del volumen plasmático, y aumentos en el espacio del líquido extracelular y en el agua corporal total.(Cengiz et al., 2015).(Luo et al., 2014).

Tabla 7. Características clínicas y de laboratorio de los pacientes IMC. Índice de masa corporal; CRL, IMA, albúmina modificada por isquemia. Tomado de Cengiz et al., 2015.

	Healthy pregnant (group I) (n = 60)	Early pregnancy loss (group II) (n = 60)	Non-pregnant (group III) (n = 60)
Age ± SD	28.5 ± 3.8	28.3 ± 3.4	28.1 ± 4.4
Parity (range)	2 (1–8)*	2 (1–5)*	1 (0–5)*
BMI	24.3 ± 3.8	23.9 ± 4.2	24.9 ± 4.5
Gestational week ± SD	8.6 ± 2.1	8.5 ± 1.8	–
Albumin (g/dL) ± SD	4.2 ± 0.4	4.1 ± 0.3†	4.3 ± 0.3†
IMA(ng/mL) (range)	173.2 (94.6–451.2)‡,¶	206.5 (28.7–775.3)¶	118.8 (62.5–296.2)‡
Adjusted IMA(ng/mL) (range)	159 (91–386)‡,¶	191 (26–713)¶	115 (60–286)‡

Los valores de IMA fueron notablemente más altos en el grupo *II*, pacientes con dilatación y ausencia de actividad cardíaca fetal, se evidencia una condición de estrés oxidativo que da como resultado la modificación de la albumina en este grupo de pacientes, es relevante en los resultados la edad de las madres gestantes, en la determinación de albumina en sangre.

El umbral de IMA de tuvo una sensibilidad del 91%, especificidad del 79%, valor predictivo positivo de 82% y valor predictivo negativo del 90%, en la comparación del grupo I y el grupo II. (Cengiz et al., 2015).

En este artículo, se determina que durante el embarazo las concentraciones de IMA son elevadas. Los estudios han demostrado que las concentraciones de IMA en suero materno aumentan específicamente en el primer trimestre, esto en comparación con los controles de mujeres no embarazadas, y se ha planteado que el desarrollo placentario y embrionario ocurre en un ambiente relativamente hipóxico, en el embarazo. Además se determina que una de las causas de pérdida de embarazo es la infección de placenta materna. Muchos de los abortos espontáneos en el primer trimestre resultan de defectos en la placenta, generando un ambiente isquémico elevado que puede causar un aumento de las concentraciones séricas IMA en embarazos complicados por aborto temprano (Cengiz et al., 2015).(Toescu, Nuttall, Martin, Kendall, & Dunne, 2002).

Mediante este estudio se concluye, que el estrés oxidativo, generado gracias a un entorno hipóxico y al desarrollo de la placenta de manera defectuosa, se puede detectar en el aumento de las concentraciones séricas de IMA. De acuerdo a los autores, estos hallazgos podrían ayudar a aclarar las complicaciones determinantes en la pérdida temprana del embarazo (Cengiz et al., 2015)

6.1.4 Evaluation of the role of ischemia modified albumin as a new biochemical marker for differentiation between ischemic and hemorrhagic stroke.

Finalmente en el artículo 4, se incluyeron 60 ancianos clasificados en tres grupos, 25 pacientes diagnosticados de infarto cerebral, 15 pacientes diagnosticados de hemorragia cerebral y 20 ancianos sanos con edad controlada. IMA se midió utilizando el método químico disponible y se realizó una tomografía computarizada (TC) para el diagnóstico de lesiones cerebrales (Gad, Zakaria, & Elgayar, 2015).

En cuanto a la interpretación de resultados los casos con absorbancia superior a 0,400 ABSU se consideraron positivos para IMA, mientras que los casos con absorbancia inferior a 0,400 ABSU se consideraron negativos para IMA.

En la tabla 10 se muestra que IMA osciló entre 0,10 y 0,30 con la media de $0,1872 \pm 0,049$ y $0,5083 \pm 0,111$ para el control y los pacientes respectivamente. Los Grupos de pacientes tienen valores estadísticamente más altos que el grupo control ($P = 0,000$, valor de la probabilidad de obtener un resultado al menos tan extremo, como el que se ha calculado). El índice IMA osciló entre 87,52-124,42 y 87,70-124,80 con la media de $104,7223 \pm 11,81$ y $110,3908 \pm 10,019$ para grupos de control y de pacientes respectivamente. El grupo de pacientes presentó valores estadísticamente más altos que el grupo control ($P = 0,047$) (Gad et al., 2015).

Tabla 8. Índice IMA e IMA en los grupos estudiados. Tomado de Gad et al., 2015.

Data	Groups	Number	Minimum	Maximum	Mean	Std deviation	F	Sig.
IMA	Control	20	.10	.30	.1872	.04940	150.065	.000
	Patients	40	.23	.80	.5083	.11150	150.065	.000
	Total	60	.10	.80	.4013	.17973	150.065	.000
IMA index	Control	20	87.54	124.42	104.7223	11.81052	3.785	.047
	Patients	40	87.79	124.80	110.3908	10.01950	3.785	.047
	Total	60	87.54	124.80	108.5013	10.88767	3.785	.047

Además se evaluó el curso del tiempo de IMA en pacientes con accidente cerebrovascular isquémico agudo, para validar su valor pronóstico. IMA se estimó en muestras de suero obtenidas de cinco pacientes con esta condición, en el momento del ingreso, 24h, 48h, y 144h después de la admisión y también de cinco sujetos control. Hubo un aumento en el nivel de IMA en muestras de accidente cerebrovascular en el ingreso en todos los tiempos (figura 18).

Al comparar los niveles de IMA en muestras de esta patología de seguimiento, con los valores de admisión se encontró que disminuyó en las muestras de seguimiento hasta las 72h (Gad et al., 2015).

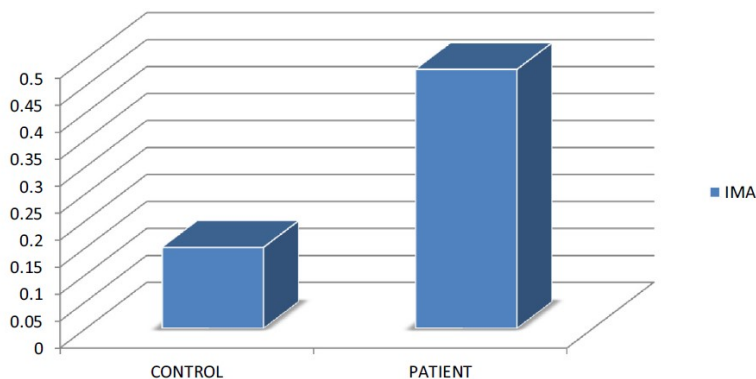


Figura 18. Niveles de IMA en grupos de control y pacientes. Tomado de Gad et al., 2015.

Los hallazgos muestran que la estimación de seguimiento del nivel de IMA en la patología, puede ayudar en la predicción del estado clínico y el resultado. También se evidencia una correlación significativa positiva entre IMA y la edad en este estudio. IMA osciló entre 0,43-0,80 y 0,23-0,49 con una media de 0,4059-0,06033 para el infarto y la hemorragia, respectivamente. El grupo con infarto tiene valores estadísticamente más altos que el grupo de hemorragia. Se puede afirmar, que aunque IMA es un marcador sensible de isquemia, como se observa en el estudio, su sensibilidad disminuye especialmente en las condiciones asociadas con la isquemia transitoria y reversible.

IMA es un biomarcador prometedor, su uso pueden considerarse en el servicio de urgencias en conjunción con otras pruebas en el diagnóstico de sospecha de ataque, para excluir el accidente cerebrovascular en pacientes con baja probabilidad clínica. Finalmente, la investigación en pacientes de edad avanzada sugiere que el ensayo IMA es un marcador sensible en los eventos iniciales del accidente cerebrovascular isquémico y hemorrágico (Gad et al., 2015).

6.2 Determinación de IMA en pacientes DM2

Dentro de los artículos evaluados en el proceso de revisión bibliográfica, se selecciona tres artículos en donde se determinan los valores IMA, en pacientes con complicaciones específicamente de la DM2, los cuales se relacionan en la tabla 11.

Tabla 9. Características artículo 1 en pacientes DM2.

Artículos pacientes con DM2	Características del estudio.
<p>Artículo 1</p> <p><i>A synergistic role of ischemia modified albumin and high-sensitivity troponin T in the early diagnosis of acute coronary syndrome.</i></p>	<p>Revista: Journal of Family Medicine and Primary Care.</p> <p>Autores: Mehta, Mihir D. Marwah, Simbita A. Ghosh, S. Shah, Hitesh N. Trivedi, Amit P. Haridas, N.</p> <p>Año de publicación: 2015.</p>
<p>Artículo 2</p> <p><i>Ischemia Modified Albumin-An Indicator of Widespread Endothelial Damage in Diabetes Mellitus</i></p>	<p>Revista: Journal of Physiobiochemical Metabolism.</p> <p>Autores: Dash Prakruti, Mangaraj Manaswini, Ray Subhasree.</p> <p>Año de publicación: 2014</p>
<p>Artículo 3</p> <p><i>Ischemia Modified Albumin (IMA) - A Marker of Glycaemic Control and Vascular Complications in Type 2 Diabetes Mellitus.</i></p>	<p>Revista: Journal of clinical and diagnostic research: JCDR.</p> <p>Autores: Chawla Rajinder, Loomba Rinchu Guru Deepak, Loomba Vikas.</p> <p>Año de publicación: 2016</p>

6.2.1 A synergistic role of ischemia modified albumin and high-sensitivity troponin T in the early diagnosis of acute coronary syndrome.

En el primer artículo específico para la DM2, se relacionan dos grupos de estudio, cuya clasificación fue un grupo control con un total de 45 pacientes, un grupo 1 con un total de 45 pacientes con DM2 Ingresados a urgencias con dolor de pecho agudo y evidencia de isquemia. (Grupo 1: Dolor torácico), y un grupo 2, con 30 pacientes que presentan dolor torácico agudo, pero sin evidencia de afectación cardíaca (Grupo2: Dolor en el pecho no isquémico).

Se midió la troponina T cardíaca de alta sensibilidad (hs-cTnT) e IMA en todos los individuos. IMA se estimó mediante el test ACB. Los valores de IMA, en los tres grupos de estudio, revelan una diferencia importante entre los pacientes isquémicos y que presentan dolor de pecho agudo, los pacientes no isquémicos y los controles (tabla 12). Los valores de hs-cTnT, prueba característica realizada frente al dolor de pecho agudo, reflejó valores positivos dentro de las 6-24h después de

la admisión, mientras que IMA refleja valores positivos dentro de la primera hora después de la admisión (Mehta et al., 2015).

Tabla 10. Resumen de la distribución de los niveles séricos de IMA entre los diferentes grupos de estudio. Tomado de Mehta et al., 2015.

IMA	Control	Nonischemic chest pain group	Ischemic chest pain group
Mean±SD (U/mL)	41.11±8.53	72.93±16.19	121.09±41.15

En las gráficas de caja y bigotes (Figura 19), se evidencia las diferencias en valores de IMA en los grupos caso y control. Además de los valores de IMA en pacientes con dolor de pecho isquémico, y pacientes sin presencia de dolor de pecho isquémico.

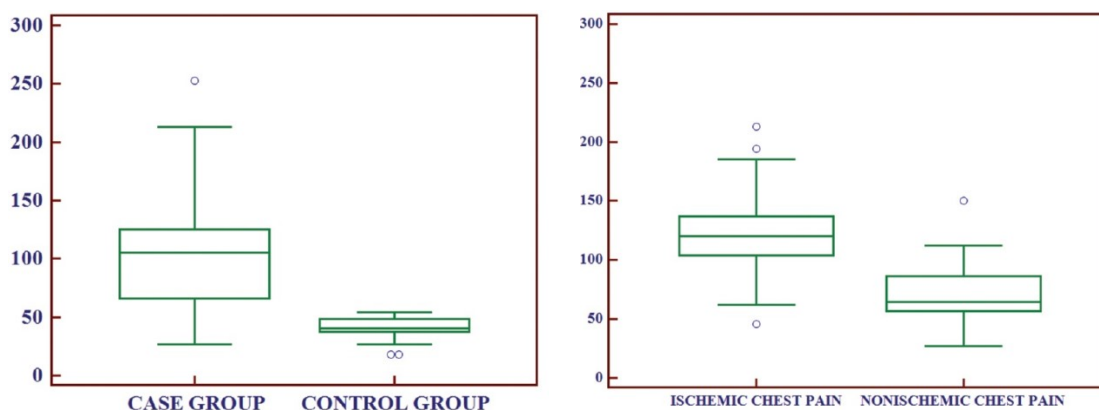


Figura 19. Gráficas de caja y bigotes que muestra la comparación de los niveles de IMA, entre el grupo de casos y el control, e IMA entre grupo con dolor torácico isquémico y dolor torácico no isquémico. Tomado de Mehta et al.

Se construyeron curvas características de operación del receptor para probar el desempeño de IMA y hs-cTnT, con un resultado inicialmente bajo de hs-cTnT que se volvió positivo dentro de las 6-24 h después de la admisión. Se calcularon sensibilidades y especificidades, a partir de las curvas ROC (Mehta et al., 2015).

Cuando se compararon los niveles séricos de IMA entre el grupo 1 (dolor torácico isquémico) y el grupo 2 (dolor torácico no isquémico), los niveles de IMA fueron significativamente mayores en el grupo de dolor torácico isquémico comparado con el grupo de dolor torácico no isquémico. Además la sensibilidad fue mayor para hs-cTnT, mientras que la especificidad fue mayor en IMA. La combinación de IMA con hs-cTnT produjo un intervalo de confianza de 0,0884 (95%). Se puede determinar que cuando se usan marcadores cardiacos tradicionales como las troponinas, hay un

retraso sustancial antes de que el factor se exprese después de un daño cardíaco, y muchos episodios isquémicos no conducen a un aumento de los niveles de troponina. Dado que hs-cTnT tiene mayor sensibilidad, mientras que IMA tiene mayor especificidad, IMA y hs-cTnT constituyen una excelente combinación que puede utilizarse en el diagnóstico precoz de ACS (Mehta et al., 2015).

La determinación conjunta de hs-cTnT e IMA, pueden ser herramientas útiles para la estratificación del riesgo de síndrome coronario agudo, además brinda una mayor precisión en el diagnóstico precoz de la misma patología.

6.2.2 Ischemia Modified Albumin-An Indicator of Widespread Endothelial Damage in Diabetes Mellitus

En el segundo artículo citado, el estudio es realizado a 116 pacientes, presentándose 40 pacientes con DM2 que en algún momento han referido complicaciones, 45 pacientes con DM2 que no han presentado complicaciones y 31 pacientes control.

Se evaluó el nivel plasmático de IMA, (hs PCR) y malondialdehído (MDA) en pacientes con DM2 con y sin complicaciones. El ensayo de IMA, se llevó a cabo utilizando Ditiotreitol (DTT) por un método colorimétrico (ACB) (Dash, Mangaraj, & Ray, 2014).

Los valores de IMA para la población de referencia de control se distribuyen normalmente. Los valores para la población de control de referencia son 17,81-54,03 U/mL , con una media, 41,11 U/mL y una mediana, 40,27 U/mL . De igual forma, mediante los datos recopilados, se evidencia, un incremento en los valores de IMA en el grupo de estudio 1 y 2 (Tabla 13), obteniéndose el mayor valor para los pacientes que ingresan a urgencias por presentar complicaciones tales como dolor de pecho agudo (grupo 2) (Dash et al., 2014a).

También se encontró que hs PCR y MDA (formado a partir de la peroxidación de lípidos de ácidos grasos poliinsaturados, y medido por la reacción de éste con el ácido tiobarbitúrico ATB) (Ito, Fujita, Tani, & Ohte, 2015), se incrementó considerablemente en los casos de estudio en comparación con los controles. En plasma IMA y MDA reveló una asociación positiva entre sí ($r = 0,87, p < 0,01$). El análisis de correlación entre IMA y hsPCR también reveló una relación positiva significativa ($r = 0,84, p < 0,01$), lo que sugiere que el aumento del estrés oxidativo junto con la inflamación crónica de bajo grado resulta en isquemia y daño endotelial generalizado con aumento de la generación de IMA en enfermedades como Diabetes mellitus tipo 2 (Dash et al., 2014a).

Tabla 11. El nivel de IMA, MDA, hsCRP y HbA1c en la población de estudio. Tomado de Dash et al., 2014

Group	IMA U/ml Mean ± SD	MDA ng/ml Mean ± SD	hsCRP mg/L Mean ± SD	HbA1c % Mean ± SD
CONTROLS n=31	50.5 ± 7.3	1.77 ± 0.16	2.0 ± 0.3	5.58 ± 0.68
GROUP 1 n=45	73.9 ± 8.1*	5.08 ± 0.86*	3.9 ± 0.5*	8.5 ± 0.81*
GROUP 2 n=40	99.4 ± 8.37*	6.5 ± 0.9*	6.3 ± 0.9*	9.1 ± 1.2*

En este artículo, el estudio registró un alto valor de MDA en los casos de Diabetes en comparación con los controles, más marcado en los pacientes del Grupo 2, apuntando hacia el aumento del estrés oxidativo asociado con la progresión del proceso de la enfermedad y está de acuerdo con muchos otros estudios sobre el papel del estrés oxidativo y libre Radicales en la patogénesis. También se documentó una correlación positiva entre IMA y MDA ($r = 0,87, p < 0,001$), así como IMA con hs PCR ($r = 0,84, p < 0,01$) (Pearson's Correlation Analysis). Por lo tanto, fue evidente que el nivel plasmático de IMA aumentó en presencia del estrés oxidativo relacionado con el nivel de MDA que es un marcador establecido de daño oxidativo.

Además, su correlación positiva con hs PCR, que también se encontró que se incrementó con el avance de las enfermedades, lo que sugiere que un proceso inflamatorio crónico continuo en presencia de un aumento del daño oxidativo que es probablemente responsable del aumento del daño endotelial y vascular. Patología que conduce a la hipoxia (Dash et al., 2014b).

Mediante este estudio, se determina que IMA, puede utilizarse como biomarcador auxiliar para el diagnóstico precoz de complicaciones en la DM2.

6.2.3 Ischemia Modified Albumin (IMA) - A Marker of Glycaemic Control and Vascular Complications in Type 2 Diabetes Mellitus.

En el artículo 3, se reclutaron un total de 100 casos diagnosticados de DM2 entre mayo de 2013 y septiembre de 2013. Se midieron y analizaron los niveles de IMA, HbA1c, perfil lipídico, creatinina con respecto a la condición clínica de los pacientes. IMA se estimó utilizando el método ACB. La mayoría de los sujetos estaban en el grupo de edad de 30 a 75 años, con sólo dos menores de 30 años y tres más de 75 años de edad. La mayoría (47,5%) de los sujetos fueron diagnosticados recientemente (duración de DM <1 año); 27,6% eran diabéticos durante 1 a 5 años y 25% durante más de 5 años. Pocos sujetos (9,8%) en el estudio mostraron un buen control glicémico, es decir, el nivel de hemoglobina glicosilada (HbA1c) por debajo de 6,4%. Alrededor de una cuarta parte 25,6% presentaron una HbA1c moderadamente elevada, mientras que la mayoría mostró un

control glucémico pobre 26,8% y muy pobre (37,8%) (tabla 14) (Chawla, Loomba, Guru, & Loomba, 2016).

Tabla 12. Perfil demográfico de los sujetos del estudio. Tomado de Chawla & et al., 2016.

Parameter	Mean \pm SEM
Age	52.9 \pm 1.4 years
Duration of DM	40.6 \pm 5.9 months
HbA1c	8.80 \pm 0.27 %
Glycaemic Control	Proportion (%)
HbA1c \leq 6.4	9.8
HbA1c 6.5 – 7.5	25.6
HbA1c 7.5 – 9.0	26.8
HbA1c $>$ 9.0	37.8
Lipid Profile	
Serum Cholesterol	181.3 \pm 5.4 mg/dl
HDL-cholesterol	45.6 \pm 1.1 mg/dl
LDL-cholesterol	106.0 \pm 3.9 md/dl
Triglycerides	154.6 \pm 11.8 mg/dl
Complication(s) of diabetes	Proportion (%)
Retinopathy + Neuropathy	4.9
Neuropathy	29.3

El valor de IMA varió desde el más bajo de 28,0 hasta un máximo de 95,3 *ABSU* en la población del estudio con una media \pm *SEM* de 62,04 \pm 1,5 *ABSU*. Los niveles de IMA no parecen estar afectados por la edad de los pacientes, no fueron significativamente mayores en las mujeres que en los hombres. Además la concentración sérica de IMA no parece estar afectada por la duración de la diabetes. Por lo tanto, parece que la formación de IMA podría ser un fenómeno agudo más que crónico (Chawla et al., 2016).

Cuando los sujetos del estudio se agruparon según la American Diabetes Association en el buen control glucémico (*HbA1c* \leq 7,0) y el control glucémico pobre (*HbA1c* $>$ 7,0), IMA parecía correlacionar con la hiperglucemia. Los valores IMA (*Media* \pm *SEM*) fueron 54,2 \pm 3,5 y 62,9 \pm 1,7 *ABSU* (*p* – *valor* $<$ 0,05), respectivamente en los dos grupos (Figura 20).

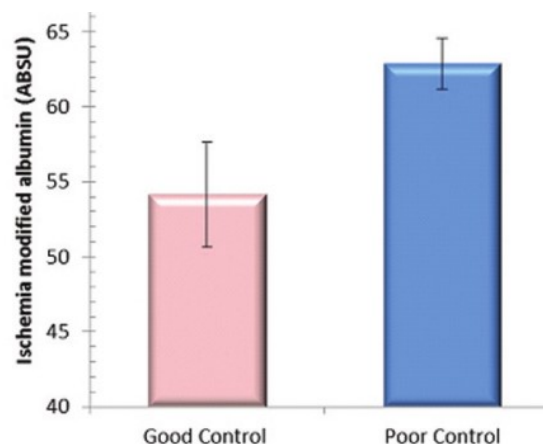


Figura 20. IMA en los grupos de control glicémico bueno y pobre. Tomado de Chawla & et al., 2016.

Las complicaciones de la diabetes mellitus de larga duración no controlada incluyen retinopatía, nefropatía y neuropatía. En el estudio sólo se observaron cuatro casos de retinopatía, mientras que 70 sujetos presentaron neuropatía leve a severa (parestesia, anestesia y/o déficit sensorial). Los niveles de IMA en pacientes que habían desarrollado estas complicaciones diabéticas se enumeran en (Tabla 15). En los sujetos sin ninguna complicación conocida, las concentraciones de IMA fueron $59,7 \pm 1,9$ ABSU, que fue ligeramente inferior a la de los pacientes con complicaciones de la diabetes (Chawla et al., 2016).

Tabla 13. IMA (Media \pm SEM) en sujetos con complicaciones de la diabetes. * Cuatro pacientes con retinopatía también presentaron síntomas de neuropatía. Tomado de Chawla & et al., 2016.

Complication	Number of patients	IMA (ABSU) Mean \pm SEM
No complications	12	59.7 \pm 1.9
Retinopathy + Neuropathy	4*	61.4 \pm 3.9
Neuropathy	66	63.0 \pm 3.5

En este artículo, los niveles plasmáticos de IMA en pacientes con DM2 se correlacionaron muy bien con los niveles de HbA1c. Los pacientes que no controlaban bien su nivel de glucosa en la sangre ($HbA1c \geq 6,4\%$) tenían niveles IMA más altos que aquellos con $HbA1c < 6,4\%$. Además, IMA mostró una buena correlación con los niveles de $HbA1c$, IMA aumentó consistentemente con el aumento de $HbA1c$.

Se puede determinar gracias a los datos arrojados por el estudio, que IMA se correlaciona con el control glucémico pobre y la dislipidemia asociada con la DM2, y que podría servir como un indicador de estrés oxidante en pacientes con dicha patología.

6.3 Resultados obtenidos en el proyecto “Biomarcadores de estrés oxidativo y control glicémico en pacientes con diabetes mellitus tipo 2” de la Universidad Nacional de Colombia.

Se incluyeron un total de 95 pacientes en este estudio, se encuentran inscritos en el Programa para la prevención de las complicaciones de la diabetes mellitus y de las dislipidemias" de la División de Lípidos y Diabetes de la Facultad de Medicina. Son pacientes bajo supervisión, incluyendo el seguimiento y enseñanza en técnicas de nutrición y vida saludable. En estos pacientes se determina el valor de IMA en un intento de elucidar el inicio de posibles complicaciones. No existe diferencia entre sexo, es una población bastante heterogénea en tiempo de enfermedad, además de no reportar complicaciones referentes a la patología DM2.

En los pacientes con alteraciones metabólicas (tabla 14), se determinaron valores de IMA entre 3,97 y 21,87 $\mu\text{g}/\text{mL}$, con un promedio de 10,78 ($\pm 4,03 \mu\text{g}/\text{mL}$). Solo 6 pacientes de toda la muestra, presentaron PCR mayor a 6 mg/L (límite máximo de referencia normal), estos altos valores fueron relacionados con IMA mayor a 9,61 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (tabla15). Los resultados indican que el biomarcador IMA es altamente sensible a alteraciones metabólicas, entre ellas el control glicémico, el IMC >25, y HDL menor de 40 mg/dL , En general pacientes con alteración de uno o más parámetros presentaron IMA mayor a 5,00 $\mu\text{g}/\text{L}$. Esta es la primera vez que se analiza el biomarcador IMA en una población colombiana, que aunque presenta DM2, está en seguimiento y control dentro del programa de prevención de complicaciones.

De la totalidad de pacientes diabéticos (con y sin alteración metabólica), se evidencian valores de IMA entre 2,16 y 21,63 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ($6.66 \pm 3,48 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$ en promedio) valores incrementados frente a los obtenidos en los pacientes no diabéticos (valor IMA en controles $4,1 \pm 1,3$).

Tabla 14.y 15 Perfil demográfico de los sujetos del estudio realizado en la Universidad Nacional de Colombia.

GRUPO	EDAD	Cantidad sobre la población total	SEXO M	SEXO F	PESO	IMC (kg/m^2)	IMA mg/L
Glicemia > 100 mg/dL	68,8 \pm 7,7	80/95	45	35	71,36 \pm 1,0	28,2 \pm 3,5	6,9 \pm 3,6
Colesterol T. > 200 mg/d	65,5 \pm 7,6	14/95	5	9	70,0 \pm 12,6	28 \pm 5,3	6,2 \pm 2,5
Colesterol HDL bajo	68,9 \pm 8,1	63/95	36	27	70,1 \pm 10,6	28,3 \pm 3,8	6,4 \pm 3,9
IMC > 27 kg/m^2	68,9 \pm 8,0	73/95	42	31	73,4 \pm 9,2	29,3 \pm 3,0	6,7 \pm 3,7

Parámetro	Promedio
GLICEMIA BASAL (mg/dl)	125±3,2
HbA1c (%)	7,1±1,2
TRIGLICÉRIDOS (mg/dl)	148,9±7,0
COLESTEROL TOTAL (mg/dl)	168,9±3,4
HDL (mg/dl)	42,2±0,5
LDL (mg/dl)	96,8±3,0
CREATININA (mg/dl)	1,00±0,01
μALBUMINURIA (mg/L)	46,6±10,0
TFG (mL/min/1,73m ²)	70±13
PESO (Kg)	70,5±1,0
IMC (kg/m ²)	27,9±3,7
PERÍM ABDO (cm)	98,1±9,8
IMA mg/L	6,74±3,5

En la figura 21 se realiza la comparación entre los niveles de IMA de los pacientes con diferentes complicaciones metabólicas y los pacientes control. En cada uno de los aspectos analizados, el valor reportado de IMA en los controles fue más bajos, respecto a los valores arrojados por los pacientes con diferentes condiciones metabólicas. El valor más alto se presenta en pacientes con niveles de colesterol total mayor a $>200 \text{ mg/ml}$.

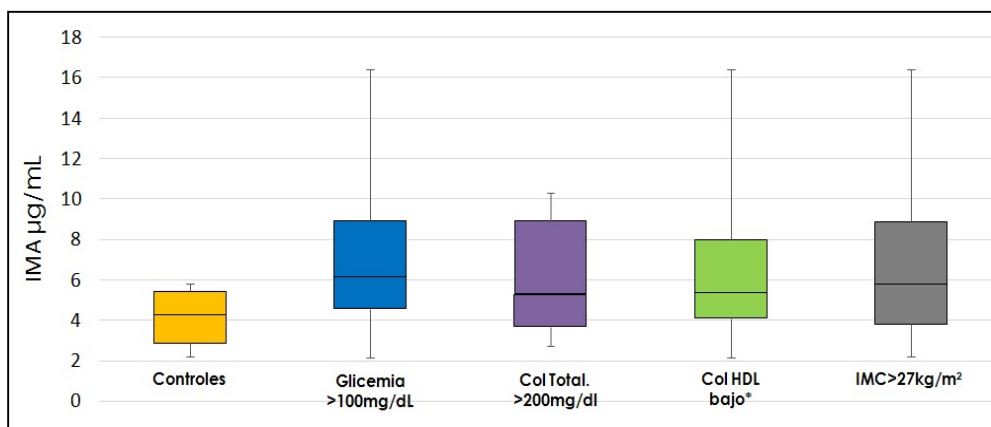


Figura 21. Comparación entre los niveles de IMA, reportados en el trabajo realizado en la Universidad Nacional de Colombia.

Se pueden asociar valores incrementados de IMA, superiores a $6 \mu\text{g/ml}$ en pacientes con hiperglicemia, dislipidemia y sobrepeso, además de presentar valores de glucosa $>100 \text{ mg/dl}$, colesterol total $>200 \text{ mg/ml}$. Los valores de colesterol HDL fueron $<40 \text{ mg/dl}$ en hombres y <50

mg/dl en mujeres. Se puede determinar que los pacientes que tienen un índice de masa corporal superior a $27\text{kg}/\text{m}^2$ presentan valores incrementados de IMA, respecto a los pacientes control (Figura 21).

Los pacientes que reportaron un valor elevado de proteína C-reactiva ($>6\frac{\text{mg}}{\text{dl}}$), presentan valores de IMA superiores al promedio determinado, (desde 7 a $9,8\ \mu\text{g}/\text{ml}$) (tabla 16). Aunque se evidencian pacientes con valores de PCR bajos, pero valores de IMA incrementados, lo que sugiere que el paciente puede tener complicaciones asociadas a la DM2, que no arrojan valores perceptibles para el biomarcador PCR, pero si para IMA que como se ha discutido es sensible y de rápido incremento frente a la condición de estrés oxidativo característico de la patología.

En la población de estudio, los pacientes que obtuvieron valores de IMA mayores a $6\ \mu\text{g}/\text{ml}$, se asocian con presencia de hipercolesterolemia, mal control glicémico, sobrepeso, además de presentar bajas concentraciones de colesterol HDL. Se puede determinar, que aquellos pacientes que presentan más de un parámetro metabólico alterado, refieren valores de IMA por encima del promedio determinado.

Tabla 16 Relación valores elevados IMA y PCR.

IMA	PCR
6,78	4,25 mg/L
9,76	102.69 mg/L
7,47	6.31 mg/L
7,85	8.53 mg/L
6,91	34.55 mg/L
7,93	5.46 mg/L
7,70	8.22 mg/L
8,97	5.73 mg/L
6,18	5.75 mg/L

Con los resultados obtenidos, se puede concluir que el biomarcador IMA tiene valores incrementados cuando el paciente presenta condiciones características de la DM2, al comparar los valores de IMA y PCR, se evidencian valores incrementados en los dos biomarcadores (superiores a los evidenciados en los controles). Pero también se puede determinar, que no siempre al verse incrementado IMA, se evidencian valores altos para PCR, lo que permite validar la sensibilidad del biomarcador IMA frente a otros (específicamente PCR).

6.4 Análisis de resultados de la revisión bibliográfica.

A través del proceso de revisión bibliográfica, se pudo determinar la importancia en la determinación del estrés oxidativo, sea en diversas patologías, o en las complicaciones específicamente de la DM2. En la actualidad existen múltiples biomarcadores que tienen esta función, ahora el interés se enfoca en el tiempo de acción de estos biomarcadores. IMA, ha demostrado mejorar el diagnóstico en muchos estudios, como un biomarcador específico de estrés oxidativo, además de ser un biomarcador de acción temprana.

En presencia de las complicaciones de la DM2, IMA puede apoyar el diagnóstico precoz de infarto de miocardio. Frente a estos procesos patológicos, como primera medida se utilizan biomarcadores como hs PCR, hs cTnT y MDA, además de realizarse determinaciones tales como control glicémico, perfil lipídico, hemoglobina glicosilada, entre otros. Es pertinente también, determinar el nivel de albumina en los pacientes, y realizar un ajuste teniendo en cuenta este parámetro, evitando falsos positivos en los estudios. Dentro de la revisión bibliográfica, en diferentes artículos también se mencionan factores como el tiempo de diagnóstico de la enfermedad, además de factores como los pacientes diabéticos que realizan ejercicio durante un tiempo determinado, pues se ha demostrado menores concentraciones IMA post ejercicio, sugiriendo que el ejercicio alivia parte del estrés oxidativo asociado con la DM2.

Los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 que demuestran mal control glicémico tienen mayores concentraciones de IMA. Aquellos con un buen control glicémico, es decir los que mantienen los niveles de glucosa en la sangre lo más cercano posible al rango normal (90 y 130 mg/dl antes de las comidas y un nivel inferior a 180 dos horas después de haber comenzado a comer, Según la American Diabetes Association) presentan valores más bajos. IMA fue significativamente mayor en pacientes diabéticos en comparación con sujetos de control en todos los estudios analizados, además las concentraciones de IMA se correlacionan con HbA1c, glucosa y hs-CRP.

Finalmente los estudios demuestran la variación de IMA con un control glicémico deficiente y la dislipidemia resultante. Se observan niveles más altos de IMA en pacientes con DM2 que presentaban una HbA1c más alta, así como en aquellos con menor colesterol HDL.

La determinación del biomarcador IMA, puede ser de gran ayuda en las complicaciones que presentan los recién nacidos, pues su ventana terapéutica es de vital importancia y requiere de un tiempo de acción inmediato, el biomarcador permite determinar complicaciones a causa del estrés oxidativo en cuestión de minutos, al incrementarse en un periodo de 30 minutos, y al mantenerse

de perdurar dicho estrés oxidativo. Aunque existen biomarcadores candidatos para la detección de cuadros clínicos como la isquemia ya sea cardíaca, o asociada a diferentes patologías, su tiempo de acción da paso a un daño irreversible. Si el tratamiento de isquemia aguda se realiza dentro de 1 h (la hora de oro), la mortalidad puede reducirse considerablemente, si hay un retardo de 3-4 h, la mortalidad puede ser 5 veces mayor.

La mayoría de artículos reportan el uso del método de colorimetría propuesto ACB, que presenta desventajas tales como la interferencia de moléculas endógenas, la falta de una medida estándar para los valores de IMA y ser un método indirecto. Se han propuesto otros métodos de análisis de IMA, como el método de ELISA, y el método fluorométrico, que son más sensibles y específicos, utilizan menor cantidad de muestra y reactivos químicos, pero siguen teniendo problemas de reproducibilidad (específicamente para el método ELISA). Es por esto que se hace necesario seguir trabajando en la búsqueda que permita hacer una cuantificación mediante un método directo.

7 CONCLUSIONES

Durante los últimos quince años, las publicaciones sobre el biomarcador se han visto incrementadas, específicamente desde el momento en el que se le propuso IMA como un biomarcador de estrés oxidativo, actualmente ha sido evaluado en diversas patologías

Se puede determinar que los resultados del biomarcador son de alta sensibilidad, satisfactorios y prometedores, en el seguimiento de patologías asociadas al estrés oxidativo por ello es de baja especificidad

Dentro de las ventajas, se encuentra el aumento de los niveles de IMA en sangre, alrededor de los 30 min posterior a un episodio isquémico, tiempo de acción insuficiente para otros biomarcadores, que actúan cuando ya existe necrosis tisular

Cuando la situación de estrés oxidativo se mantiene, los valores de IMA permanecerán elevados permitiendo que el biomarcador sea útil en los procesos de seguimiento en las complicaciones de diversas patologías.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el proyecto “Biomarcadores de estrés oxidativo y control glicémico en pacientes con diabetes mellitus tipo 2” se evidencia valores de IMA incrementados en los pacientes respecto al grupo control. Además de encontrarse correlación valores incrementados de PCR en los pacientes DM2, aunque se puede validar de la sensibilidad de IMA frente PCR al encontrarse valores incrementados de IMA en pacientes que reflejan valores bajos de PCR, lo que podría indicar complicaciones que no son detectadas por el biomarcador PCR. Se encuentra relación con otros parámetros metabólicos alterados.

Una forma de validar los resultados es mantener una medida de IMA en los pacientes lo que podría tener valor predictivo en el desarrollo de complicaciones cardiovasculares de la DM2, esto teniendo en cuenta otros análisis de soporte al estudio.

Los valores obtenidos durante este primer estudio realizado en Colombia, pueden ser usados como referencia en próximos estudios en una población diabética.

Se debe ampliar el estudio en métodos que permitan una valoración y cuantificación de IMA de forma directa, reproducible y amigable con el medio ambiente.

8 REFERENCIAS

- Altamirano, G. A. (2011). Radicales libres y mecanismos de daño tisular en la diabetes mellitus. *Revista de La Facultad de Medicina de La UNAM*, 5(3).
- Amirtharaj, G. J., Natarajan, S. K., Mukhopadhyaya, A., Zachariah, U. G., Hegde, S. K., Kurian, G., ... Ramachandran, A. (2008). Fatty acids influence binding of cobalt to serum albumin in patients with fatty liver. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1782(5), 349–354. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2008.02.006>
- Arregoces, F. E., Uriza, C. L., Porras, J. V., Camargo, M. B. F., & Morales, A. R. (2014). Relation between ultra-sensitive C-reactive protein, diabetes and periodontal disease in patients with and without myocardial infarction. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia E Metabologia*, 58(4), 362–8. <https://doi.org/10.1590/0004-2730000002899>
- Ashok Kumar, P., & Subramanian, K. (2016). The role of ischemia modified albumin as a biomarker in patients with chronic liver disease. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 10(3), BC09-BC12. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/17168.7399>
- Aydin, S. (2015). A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. *Peptides*, 72, 4–15. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2015.04.012>
- Babuín, L., & Jaffe, A. S. (2005). Troponin: The biomarker of choice for the detection of cardiac injury. *Cmaj*, 173(10), 1191–1202. <https://doi.org/10.1503/cmaj/051291>
- Bandyopadhyay, U., Das, D., & Banerjee, R. K. (1999). Reactive oxygen species: Oxidative damage and pathogenesis. *Current Science*, 77(5), 658–666.
- Bar-Or, D., Bar-Or, R., Rael, L. T., & Brody, E. N. (2015). Oxidative stress in severe acute illness. *Redox Biology*, 4, 340–345. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.01.006>
- Bar-Or, D., Curtis, G., Rao, N., Bampos, N., & Lau, E. (2001). Characterization of the Co²⁺ and Ni²⁺ binding amino-acid residues of the N-terminus of human albumin. *European Journal of Biochemistry*, 268, 42–48. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2001.01846.x>
- Bar-Or, D., Lau, E., & Winkler, J. V. (2000). A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia—a preliminary report. *The Journal of Emergency Medicine*, 19(4), 311–315. [https://doi.org/10.1016/S0736-4679\(00\)00255-9](https://doi.org/10.1016/S0736-4679(00)00255-9)
- Bardají, A. (2005). El papel de las troponinas en el diagnóstico y el pronóstico de los síndromes coronarios agudos. *Revista Espanola de Cardiologia Suplementos*, 5(C), 19–25. [https://doi.org/10.1016/S1131-3587\(05\)74109-1](https://doi.org/10.1016/S1131-3587(05)74109-1)
- Bayr, H. (2005). Reactive oxygen species. *Critical Care Medicine*, 33(12), 1–10. <https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000186787.64500.12>
- Bean, H. D., Pleil, J. D., & Hill, J. E. (2015). Editorial: New analytical and statistical approaches for interpreting the relationships among environmental stressors and biomarkers. *Biomarkers : Biochemical Indicators of Exposure, Response, and Susceptibility to Chemicals*, 20(1), 1–4.

<https://doi.org/10.3109/1354750X.2014.985254>

- Becker, L. B. (2004). New concepts in reactive oxygen species and cardiovascular reperfusion physiology. *Cardiovascular Research*, 61(3), 461–470.
- Beyazit, F., Yilmaz, N., Balci, O., Adam, M., Yaman, S. T., Franks, S., ... Kaski, J. (2016). Evaluation of Oxidative Stress in Women with Polycystic Ovarian Syndrome as Represented by Serum Ischemia Modified Albumin and Its Correlation with Testosterone and Insulin Resistance. *Internal Medicine*, 55(17), 2359–2364. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.55.6265>
- Birben, E., Murat, U., Md, S., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *WAO Journal*, 5(January), 9–19. <https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613>
- Bruno, L. (2015). Preacondicionamiento remoto por isquemia-reperfusión en la lobectomía pulmonar. Un estudio sobre la prevención del estrés oxidativo.
- Buettner, G. R. (2015). Moving free radical and redox biology ahead in the next decade(s). *Free Radical Biology and Medicine*, 78, 236–238. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.10.578>
- Calderón, M., Aranzález, L., Cárdenas, F., Gómez-Banoy, N., & Cuevas Higueta, V. (2016). Evaluación del biomarcador de estrés oxidativo Albumina Modificada por la isquemia y parámetros metabólicos en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. *Libro de Memorias Del Segundo Congreso Colombiano de Bioquímica Y Biología Molecular Medellín, COLOMBIA Noviembre de 2016 ISBN 978-958-59491-1-9*.
- Cengiz, H., Dagdeviren, H., Kanawati, A., Çaypinar, S. S., Yesil, A., Ekin, M., ... To. (2015). Ischemia-modified albumin as an oxidative stress biomarker in early pregnancy loss. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine ISSN*, 29(11). <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2010.12.001>
- Chan, B., Dodsworth, N., & Woodrow, J. (1995). Site specific N-terminal auto-degradation of human serum albumin, 528, 524–528.
- Chan, D., & Leong, L. (2010). Biomarkers in acute myocardial infarction. *BMC Medicine*, 8(1), 34. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-8-34>
- Chawla, R., & et.al. (2016). Ischemia Modified Albumin (IMA) - A Marker of Glycaemic Control and Vascular Complications in Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of Clinical and Diagnostic Research : JCDR*, 10(3), BC13-6.
- Chawla, R., Loomba, R., Guru, D., & Loomba, V. (2016). Ischemia Modified Albumin (IMA) - A Marker of Glycaemic Control and Vascular Complications in Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of Clinical and Diagnostic Research : JCDR*, 10(3), BC13-6. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/15282.7432>
- Cheng, J. M. (2016). *Coronary Artery Disease: from Atherosclerosis to Cardiogenic Shock*.
- Corona, J. C., Arellano, D., López, L., & Domínguez, M. (2015). Nuevas pruebas diagnósticas para la determinación de troponina I en pacientes con cardiopatía isquémica New diagnostic tests

for troponin I in patients with ischemic heart disease, 551–558.

- Crume, T. L., Hamman, R. F., Isom, S., Talton, J., Divers, J., Mayer-Davis, E. J., ... Dabelea, D. (2016). Factors Influencing Time to Case Registration for Youth with Type 1 and Type 2 Diabetes: Search for Diabetes in Youth Study. *Annals of Epidemiology*, 26(9), 631–637. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2016.07.014>
- Dash, P., Mangaraj, M., & Ray, S. (2014a). Ischaemia Modified Albumin- An Indicator of Widespread Endothelial Damage in Diabetes. *Journal of Physiobiochemical Metabolism*, 2–5.
- Dash, P., Mangaraj, M., & Ray, S. (2014b). Physiobiochemical metaboliam ischemia modified albumin an indicator of widespread endothelial damage, 2–5.
- Dean, R. T., Fu, S., Stocker, R., & Davies, M. J. (1997). Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *The Biochemical Journal*, 18(1), 1–18. <https://doi.org/10.1042/bj3240001>
- Diabetes Federation International. (2016). Informe Mundial de la diabetes. *Resumen de Orientación*, 4. Retrieved from <http://www.idf.org/node/26452?language=es>
- Dursun, A., Okumus, N., & Zenciroglu, A. (2012). Ischemia-modified albumin (IMA): could it be useful to predict perinatal asphyxia? *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine : The Official Journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians*, 25(11), 2401–5. <https://doi.org/10.3109/14767058.2012.697943>
- Ellidag, H. Y., Bulbuller, N., Eren, E., Abusoglu, S., Akgol, E., Cetiner, M., & Yilmaz, N. (2013). Ischemia-modified albumin: Could it be a new oxidative stress biomarker for colorectal carcinoma? *Gut and Liver*, 7(6), 675–680. <https://doi.org/10.5009/gnl.2013.7.6.675>
- Ellidag, H. Y., Eren, E., Aydın, O., Akgol, E., Yalcinkaya, S., Sezer, C., & Yilmaz, N. (2013). Ischemia Modified Albumin Levels and Oxidative Stress in Patients with Bladder Cancer, 14, 2759–2763.
- FDA Consum. (2003). Lab test rules out heart attack. *DEPARTMENT OF HEALTH Lk HUMAN SERVICES*, 37(3).
- Frenk Baron, P., & Márquez, E. (2010). Diabetes Mellitus Tipo 2 En Niños Y Adolescentes. *Medicina Interna de México Volumen*, 26(1), 12. Retrieved from http://cmim.org/boletin/pdf2010/MedIntContenido01_09.pdf
- Gad, M. S., Zakaria, N. H. E.-D., & Elgayar, N. H. A. A.-M. (2015). Evaluation of the role of ischemia modified albumin as a new biochemical marker for differentiation between ischemic and hemorrhagic stroke. *Alexandria Journal of Medicine*, 51(3), 213–217. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2014.08.006>
- García de Blanco, M., Merino, G., Maulino, N., & Coromoto Méndex, N. (2012). Diabetes mellitus en niños y adolescentes. *Revista Venezolana de Endocrinología Y Metabolismo*, 10(Figura 2), 13–21.
- Gaze, D. C. (2013). Biomarkers of Cardiac Ischemia. *Ischemia-Heart Disease*.

- Gligorovski, S., Strekowski, R., Barbat, S., & Vione, D. (2015). Environmental Implications of Hydroxyl Radicals (\bullet OH). *Chemical Reviews*, *115*(24), 13051–13092. <https://doi.org/10.1021/cr500310b>
- Gottlieb, V., Ma, I. B., Duarte, M. M. F., Moresco, R. N., Helena, C., Schwanke, A., & Bodanese, L. C. (2016). Associations among Metabolic Syndrome, Ischemia, Inflammatory, Oxidatives, and Lipids Biomarkers, *95*(November), 586–591. <https://doi.org/10.1210/jc.2009-1592>
- Guéraud, F., Atalay, M., Bresgen, N., Cipak, a, Eckl, P. M., Huc, L., ... Uchida, K. (2010). Chemistry and biochemistry of lipid peroxidation products. *Free Radical Research*, *44*(10), 1098–1124. <https://doi.org/10.3109/10715762.2010.498477>
- Gurumurthy, P., Borra, S. K., Yeruva, R. K. R., Victor, D., Babu, S., & Cherian, K. M. (2014). Estimation of Ischemia Modified Albumin (IMA) levels in patients with acute coronary syndrome. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, *29*(3), 367–371. <https://doi.org/10.1007/s12291-013-0367-3>
- Halliwell, B. (2012). Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *International Life Sciences Institute*, *70*(5), 257–65.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*.
- He, X. M., & Carter, D. C. (1992). Atomic structure and chemistry of human serum albumin. *Nature*, *358*(6383), 209–215. <https://doi.org/10.1038/358209a0>
- Hemnani, T., & Parihar, M. S. (1998). Reactive oxygen species and oxidative DNA damage. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, *42*(4), 440–452. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10874342>
- Höhn, A., & König, J. (2013). Protein oxidation in aging and the removal of oxidized proteins. *Journal of Proteomics*, *92*, 132–159.
- Hokama. (2007). Acute phase pl related. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, *21*(2), 71–76. <https://doi.org/10.1002/jcla>
- Hybertson, B. M., Gao, B., Bose, S. K., & McCord, J. M. (2011). Oxidative stress in health and disease: The therapeutic potential of Nrf2 activation. *Molecular Aspects of Medicine*, *32*(4–6), Hybertson, B. M., Gao, B., Bose, S. K., McCord,. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2011.10.006>
- Inzucchi, S. E., Bergenstal, R. M., Buse, J. B., Diamant, M., Ferrannini, E., Nauck, M., ... Matthews, D. R. (2015). Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes, 2015: A Patient-Centered Approach: Update to a position statement of the american diabetes association and the european association for the study of diabetes. *Diabetes Care*, *38*(1), 140–149. <https://doi.org/10.2337/dc14-2441>
- Ito, T., Fujita, H., Tani, T., & Ohte, N. (2015). Malondialdehyde-modified low-density lipoprotein is a predictor of cardiac events in patients with stable angina on lipid-lowering therapy after percutaneous coronary intervention using drug-eluting stent. *Atherosclerosis*, *239*(2), 311–317. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2015.01.026>
- Jiang, T., Liu, X., Qiu, X., Zhang, H., Liao, P., Fu, W., & Luo, Y. (2015). Response to comment on

- “Interference-free determination of ischemia-modified albumin using quantum dot coupled X-ray fluorescence spectroscopy” [Biosens. Bioelectron. 51 (2014) 136-142]. *Biosensors and Bioelectronics*, 65(March 2015), 437–438. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.08.042>
- Kalogeris, T., Bao, Y., & Korthuis, R. J. (2014). Mitochondrial reactive oxygen species: A double edged sword in ischemia/reperfusion vs preconditioning. *Redox Biology*, 2(1), 702–714. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2014.05.006>
- Kanti, T., Wati, M., & Fatima-Shad, K. (2014). Oxidative Stress Gated by Fenton and Haber Weiss Reactions and Its Association With Alzheimer’s Disease. *Archives of Neuroscience*, 2(2), 1–8. <https://doi.org/10.5812/archneurosci.20078>
- Kaplan, M., Yuksel, M., Ates, I., Kilic, Z. M. Y., Kilic, H., Kuzu, U. B., & Kayacetin, E. (2016). Is ischemia modified albumin a disease activity marker for inflammatory bowel diseases? *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 31(6), 1120–1125. <https://doi.org/10.1111/jgh.13254>
- Kurian, G. A., Rajagopal, R., Vedantham, S., & Rajesh, M. (2016). The Role of Oxidative Stress in Myocardial Ischemia and Reperfusion Injury and Remodeling : Revisited, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/1656450>
- Lee, E., Eom, J. E., Jeon, K. H., Kim, T. H., Kim, E., Jhon, G. J., & Kwon, Y. (2014). Evaluation of albumin structural modifications through cobalt-albumin binding (CAB) assay. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 91, 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2013.12.003>
- Lombide, R. (2014). Expresion y purificacion Pichia Pastoris.
- Lopresti, A. L., Maker, G. L., Hood, S. D., & Drummond, P. D. (2014). A review of peripheral biomarkers in major depression: The potential of inflammatory and oxidative stress biomarkers. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 48, 102–111. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.09.017>
- Lunardelli, A., & Oliveira, J. R. (2015). Use of ischemia modified albumin for the diagnosis of myocardial infarction, (December), 383–388. <https://doi.org/10.5935/1676-2444.20150060>
- Luo, Y., Wang, C., Jiang, T., Zhang, B., Huang, J., Liao, P., & Fu, W. (2014). Interference-free determination of ischemia-modified albumin using quantum dot coupled X-ray fluorescence spectroscopy. *Biosensors and Bioelectronics*, 51, 136–142. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2013.07.046>
- Lushchak, V. I. (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-Biological Interactions*, 224, 164–175. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2014.10.016>
- Mahajan, V. S., & Jarolim, P. (2011). How to interpret elevated cardiac troponin levels. *Circulation*, 124(21), 2350–2354. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.023697>
- Maldonado, O., & Jiménez Nahúm. (2010). Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. *Revista Médica de La Universidad Veracruzana, Julio-Dici(272)*, 32–39.
- Manzur, F. (2012). Biomarcadores cardíacos : presente y futuro. *Revista Colombiana de*

Cardiología, 19(1), 300–311.

Manzur, F., Alvear, C., & Alayón, A. N. (2011). Papel de la proteína C reactiva en las enfermedades cardiovasculares. *Revista Colombiana de Cardiología*, 18(5), 273–278.
[https://doi.org/10.1016/S0120-5633\(11\)70198-X](https://doi.org/10.1016/S0120-5633(11)70198-X)

Margaritelis, N. V., Veskoukis, A. S., Paschalis, V., Vrabas, I. S., Dipla, K., Zafeiridis, A., ... Nikolaidis, M. G. (2015). Blood reflects tissue oxidative stress : a systematic review. *Biomarkers*, 0(0), 1–12. <https://doi.org/10.3109/1354750X.2014.1002807>

Martinez, G. (2005). Especies reactivas del oxígeno y balance redox, parte I: aspectos básicos y principales especies reactivas del oxígeno. *Revista Cubana de Farmacia*, 39(3).

Marx, G., & Chevion, M. (1986). Site-specific modification of albumin by free radicals. Reaction with copper(II) and ascorbate. *The Biochemical Journal*, 236(2), 397–400.

Mehta, M. D., Marwah, S. A., Ghosh, S., Shah, H. N., Trivedi, A. P., & Haridas, N. (2015). A synergistic role of ischemia modified albumin and high-sensitivity troponin T in the early diagnosis of acute coronary syndrome. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 4(4), 570–575.

Méndez, M. T., Rafaela, M., & González, R. (2010). Estudio de marcadores bioquímicos de interés en el diagnóstico y pronóstico del síndrome coronario agudo. *UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID FACULTAD DE FARMACIA Departamento de Bioquímica Y Biología Molecular*, 1–146.

Metskas, L. A., & Rhoades, E. (2016). Order – Disorder Transitions in the Cardiac Troponin Complex. *Journal of Molecular Biology*, 428(15), 2965–2977.
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2016.06.022>

Mittal, M., Siddiqui, M. R., Tran, K., Reddy, S. P., & Malik, A. B. (2014). Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxidants & Redox Signaling*, 20(7), 1126–67.
<https://doi.org/10.1089/ars.2012.5149>

Morrow, D. A., De Lemos, J. A., Sabatine, M. S., & Antman, E. M. (2003). The search for a biomarker of cardiac ischemia. *Clinical Chemistry*, 49(4), 537–539.
<https://doi.org/10.1373/49.4.537>

Mozaffarian, D., & Benjamin, E. J. (2016). Executive Summary: Heart Disease and Stroke Statistics--2016 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*, 133(4), 447–454.

Nathan, C., & Cunningham-Bussel, A. (2013). Beyond oxidative stress: an immunologist's guide to reactive oxygen species. *Nature Reviews. Immunology*, 13(5), 349–61.
<https://doi.org/10.1038/nri3423>

Nilsson, S., Scheike, M., Engblom, D., Karlsson, L. G., Mölstad, S., Akerlind, I., ... Nylander, E. (2003). Chest pain and ischaemic heart disease in primary care. *British Journal of General Practice*, 53(490), 378–382.

Nimse, S. B., & Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Adv.*, 5(35), 27986–28006. <https://doi.org/10.1039/C4RA13315C>

- Nørgaard, B. L., Andersen, K., Thygesen, K., Ravkilde, J., Abrahamsson, P., Grip, L., & Dellborg, M. (2004). Long term risk stratification of patients with acute coronary syndromes: characteristics of troponin T testing and continuous ST segment monitoring. *Heart (British Cardiac Society)*, *90*(7), 739–44. <https://doi.org/10.1136/hrt.2003.020479>
- Oxilia, R. M. (2014). Estrés oxidativo y sistema de defensa antioxidante. *Revista Del Instituto de Medicina Tropical*, *5*(2), 23–27.
- Pérez Surribas, D., Cárdenas Fernández, M. C., Cortés Rius, M., Fernández García, M., García Montes, M., Llompart Alabern, I., ... Martínez Bru, C. (2009). Nuevos marcadores en el síndrome coronario agudo. *Revista Del Laboratorio Clínico*, *2*(1), 34–46. <https://doi.org/10.1016/j.labcli.2008.10.002>
- Piper, H. M., Meuter, K., & Schafer, C. (2003). Cellular mechanisms of ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg*, *75*(2), S644-8. [https://doi.org/10.1016/S0003-4975\(02\)04686-6](https://doi.org/10.1016/S0003-4975(02)04686-6)
- Quinlan, C. L., Perevoshchikova, I. V., Hey-Mogensen, M., Orr, A. L., & Brand, M. D. (2013). Sites of reactive oxygen species generation by mitochondria oxidizing different substrates. *Redox Biology*, *1*(1), 304–312. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2013.04.005>
- Ramamoorthy, R. D., Nallasamy, V., Reddy, R., Esther, N., & Maruthappan, Y. (2012). A review of C-reactive protein: A diagnostic indicator in periodontal medicine. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, *4*(Suppl 2), S422-6. <https://doi.org/10.4103/0975-7406.100318>
- Ramos, A. M., Pellanda, L. C., Gus, I., & Portal, V. L. (2009). Inflammatory markers of cardiovascular disease in the elderly. *Arq Bras Cardiol.*, *92*(3), 221–8, 227–34.
- Ray, P. D., Huang, B. W., & Tsuji, Y. (2012). Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cellular Signalling*, *24*(5), 981–990. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2012.01.008>
- Rodríguez, B., Alonso, M. E., & Boyero, E. (2003). ESTRÉS OXIDATIVO Y SISTEMA DE DEFENSA ANTIOXIDANTE. *Revista de Ciencias Médicas La Habana*, *9*(2), 23–27.
- Rosenoer, V. ., & Oratz, M. (2014). *Albumin: Structure, Function and Uses*. Elsevier.
- Sanchez, P. (2006). Cinética de la proteína C reactiva en las distintas manifestaciones clínicas del síndrome coronario agudo. *Revista Española de Cardiología*, *59*.
- Sena, L. A., & Chandel, N. S. (2012). Physiological roles of mitochondrial reactive oxygen species. *Molecular Cell*, *48*(2), 158–166. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.09.025>
- Seshadri Reddy, V., Sethi, S., & Gupta, N. (2016). SIGNIFICANCE OF ISCHEMIA-MODIFIED ALBUMIN AS A SIMPLE MEASURE OF OXIDATIVE STRESS AND ITS DISCRIMINATORY ABILITY IN DIABETIC RETINOPATHY. *The Journal of Retinal and Vitreous Diseases*, *36*(6).
- Sheehan, A., & Zamora, J. (2016). Structural investigation of the cardiac troponin complex by molecular dynamics. *Cardiovascular Research*, *111*(1).
- Sies, Helmut, ed. O. stress. E. (2013). *Oxidative stress*.
- Singh, R., Devi, S., & Gollen, R. (2015). Role of free radical in atherosclerosis, diabetes and

- dyslipidaemia: Larger-than-life. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 31(2), 113–126. <https://doi.org/10.1002/dmrr.2558>
- Slater, T. F. (1984). Free-radical mechanisms in tissue injury. *The Biochemical Journal*, 222(1), 1–15. <https://doi.org/10.1042/bj2220001>
- Stadtman, E. R. (1990). Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: Biochemical mechanism and biological consequences. *Elsevier*, 9(4), 315–325.
- Stadtman, E. R., & Levine, R. L. (2000). Protein Oxidation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 899(1), 191–208. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06187.x>
- Sugio, S., Kashima, a, Mochizuki, S., Noda, M., & Kobayashi, K. (1999). Crystal structure of human serum albumin at 2.5 Å resolution. *Protein Engineering*, 12(6), 439–446. <https://doi.org/10.1093/protein/12.6.439>
- Toescu, V., Nuttall, S. L., Martin, U., Kendall, M. J., & Dunne, F. (2002). Oxidative stress and normal pregnancy. *Clinical Endocrinology*, 57(5), 609–613. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2265.2002.01638.x>
- Valko, M., Jomova, K., Rhodes, C. J., Kuča, K., & Musílek, K. (2016). Redox- and non-redox-metal-induced formation of free radicals and their role in human disease. *Archives of Toxicology* (Vol. 90). <https://doi.org/10.1007/s00204-015-1579-5>
- Veskoukis, A. S., Kyparos, A., Paschalis, V., Michalis, G., Veskoukis, A. S., Kyparos, A., ... Nikolaidis, M. G. (2016). Spectrophotometric assays for measuring redox biomarkers in blood, 5804(February). <https://doi.org/10.3109/1354750X.2015.1126648>
- Weidinger, A., & Kozlov, A. V. (2015). Biological Activities of Reactive Oxygen and Nitrogen Species: Oxidative Stress versus Signal Transduction. *Biomolecules*, 5(2), 472–84. <https://doi.org/10.3390/biom5020472>
- Windgassen, E. B., Funtowicz, L., & et al. (2011). C-Reactive Protein and High-Sensitivity C-Reactive Protein : An Update for Clinicians, 123(1), 114–119.
- Yang, F., Zhang, Y., & Liang, H. (2014). Interactive association of drugs binding to human serum albumin. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(3), 3580–3595. <https://doi.org/10.3390/ijms15033580>
- Yang, L., Hou, X.-Y., Wei, Y., Thai, P., & Chai, F. (2016). Biomarkers of the health outcomes associated with ambient particulate matter exposure. *Science of The Total Environment*. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.11.146>
- Yerlikaya, F. H., Kurban, S., Mehmetoglu, I., Annagur, A., Altunhan, H., Erbay, E., & Ors, R. (2014). Serum ischemia-modified albumin levels at diagnosis and during treatment of late-onset neonatal sepsis. *Journal Matern Fetal Neonatal Med*, 27(17), 1723–1727. <https://doi.org/10.3109/14767058.2013.876621>
- Zorov, D. B., Juhaszova, M., & Sollott, S. J. (2014). Mitochondrial Reactive Oxygen Species (ROS) and ROS-Induced ROS Release. *Physiological Reviews*, 94(3), 909–950. <https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2013>