



ESTRÉS OXIDATIVO EN NIÑOS OBESOS

Douglas Fernández¹, Danay Heredia¹, Jesús Alfonso¹, Julieta García², Emilio González³.

1.Unidad de Investigaciones Biomédicas. Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara. Cuba

2.Hospital Pediátrico Provincial “José Luis Miranda” de Villa Clara. Cuba

3.Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Cuba

Correspondencia: Douglas Fernández Caraballo. Licenciado en Bioquímica, Master en Bioquímica, Investigador Agregado, Profesor Asistente, Diplomado en Genética Médica. Dirección particular: Edificio 109 apto 9 entre 6ta y doble Vía. Reparto Vigía Sur. Santa Clara. Villa Clara. Cuba.

Email: douglasfc@ucm.vcl.sld.cu

RESUMEN

La obesidad infantil ha mostrado un dramático incremento en la última década, alcanzando proporciones epidémicas no sólo en el mundo desarrollado, sino también en los países en desarrollo. La evidencia actual muestra que el principal hecho que subyace en las comorbilidades relacionadas con la obesidad podría ser la presencia de estrés oxidativo, el cual está directamente relacionado con el índice de masa corporal. Nos propusimos determinar la actividad de las enzimas antioxidantes Superóxido dismutasa y Catalasa así como los niveles séricos de Glutatión reducido y Malonildialdehído en 87 niños obesos y

Recibido: 2-8-2014

Aprobado: 10-09-2014



en un grupo control. Fueron analizadas muestras de suero de niños obesos con edades comprendidas entre 5 y 14 años provenientes de la consulta de endocrinología del Hospital Pediátrico “José Luis Miranda” de la provincia de Villa Clara. Se emplearon técnicas espectrofotométricas para todas las determinaciones realizadas en el estudio, aplicándose pruebas de normalidad y comparación de medias para la evaluación de las diferencias entre ambos grupos. Fue encontrada una reducción significativa en la actividad de ambas enzimas antioxidantes así como de los niveles séricos de glutatión reducido en niños obesos al compararlos con el grupo control. Por su parte el malonildialdehído aunque aumentó, no presentó diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. Los niños obesos presentan una afectación del sistema de defensa antioxidante de tipo enzimático y daño a lípidos, lo cual podría conllevar a un estado de estrés oxidativo haciéndolos más susceptibles al daño provocado por los radicales libres.

PALABRAS CLAVE: obesidad infantil, estrés oxidativo, especies reactivas del oxígeno.

OXIDATIVE STRESS IN OBESE CHILDREN

ABSTRACT

Children's obesity has shown an increase during last decades reaching epidemic proportions not only in developed countries. Current evidences show oxidative stress as a major fact related with comorbidity in obese patients taking accounts the body mass index. Our aims were to determine antioxidant enzymatic activity superoxide dismutase and catalase as well as serum levels of reduced glutathione and malonildialdehyde in samples from 87 obese children and a control group. It was used serum samples from obese children aged between 5 and 14 years from endocrinology outpatient's service belonging to Paediatric Hospital “José Luis Miranda” of Santa Clara, Villa Clara. All determinations were performed by spectrophotometric techniques applying biostatistical test to evaluate

Recibido: 2-8-2014

Aprobado: 10-09-2014



differences between both groups. Obese children showed a significant decrease in superoxide dismutase and catalase activity as well as reduced glutathione compared with control group. Although malonidialdehyde increase in obese children it did not show statistical significance between both groups. Obese children show a compromised antioxidant enzymatic system unable to reach an oxidative equilibrium. This situation can provoke damage mediated by oxygen reactive species to different cellular biomolecules including lipids.

KEYWORDS: children obesity, oxidative stress, oxygen reactive species

INTRODUCCIÓN

La prevalencia de obesidad en las etapas tempranas de la vida se ha incrementado a nivel mundial en las últimas décadas (1). Ha existido la tradición de pensar que un niño gordito es sinónimo de niño saludable y esa creencia ha estado muy arraigada hasta en el personal de salud y de centros que prestan cuidados a los niños. Sin embargo, recientemente a medida que se va conociendo cada vez más los riesgos de la obesidad para la salud se impone un cambio de estas concepciones en el ambiente familiar y sanitario para poder combatir esta epidemia (2). Existen criterios diferentes

para considerar a un niño con sobrepeso u obesidad y las definiciones no se equiparan con los adultos pues los valores de referencia del índice de masa corporal

e índice de cintura-cadera son diferentes y su interpretación depende de la edad del niño ya que este índice es muy cambiante durante el desarrollo (3).

El seguimiento hasta la etapa adulta ha demostrado claramente que los niños y adolescentes tienen eventualmente un mayor riesgo de obesidad, de enfermedad cardiovascular, de hipertensión y de muerte por enfermedades cardiovasculares isquémicas y aterosclerosis. La correlación entre la

Recibido: 2-8-2014

Aprobado: 10-09-2014



obesidad del niño y del adolescente con obesidad en la vida adulta aumenta con la edad. Así, el riesgo de ser obeso a los 35 años es de 8 a 10 veces si se ha sido obeso a los 10 años y de 35 a 56 veces si lo ha sido a los 18 años (4). El periodo crítico final de la niñez es la adolescencia; ésta representa un periodo de incremento del riesgo para el desarrollo de la obesidad en las niñas, pero es también un periodo en el cual la localización de la grasa corporal cambia y entraña el subsecuente riesgo asociado (4). Por tanto la persistencia de la obesidad desde la niñez hasta la adultez entraña múltiples problemas de salud, con un gran impacto sobre la morbilidad y mortalidad.

Hay estudios que apuntan a que la obesidad es un estado de estrés oxidativo crónico (5). Este estrés es un desbalance entre los radicales libres (RL) en los tejidos, especies reactivas del oxígeno (EROs) y antioxidantes, y puede llegar a ser el principal mecanismo subyacente en los factores comórbidos relacionados con

la obesidad (6). Ambos, estrés oxidativo y obesidad, pueden manifestarse incluso dentro de las primeras dos décadas de vida, siendo la exposición crónica a agentes oxidantes un factor contribuyente a la iniciación y progresión de enfermedades cardiovasculares y diabetes (6). Todo esto ha hecho que en la actualidad el estrés oxidativo sea considerado como un blanco potencial para las intervenciones clínicas en el tratamiento de múltiples enfermedades.

Frente a la acción tóxica de los RL, el organismo ha desarrollado numerosos mecanismos de defensa antioxidantes, que permiten su eliminación o transformación en moléculas más estables, tanto a nivel fisiológico como bioquímico (7). Así, a nivel fisiológico destaca el sistema microvascular, cuya función es mantener los niveles tisulares de O₂. A nivel bioquímico, la defensa antioxidante puede ser mediante el sistema enzimático constituido por las enzimas superóxido dismutasa (SOD),

Recibido: 2-8-2014

Aprobado: 10-09-2014



catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx) y el sistema no enzimático o “barredores” de radicales libres y los sistemas reparadores de macromoléculas (7). Conociendo que la obesidad infantil ha mostrado un dramático incremento en la última década y por la necesidad existente de conocer la posible alteración redox que presentan los niños aquejados con esta patología en la provincia de Villa Clara, Cuba; nos propusimos determinar la actividad de las enzimas antioxidantes Superóxido Dismutasa y Catalasa así como los niveles séricos de Glutathion reducido y Malonildialdehído en un grupo de niños obesos y establecer comparaciones con grupo control. Los resultados podrían contribuir en la prevención de la obesidad desde etapas tempranas, orientando estilos de vida saludables.

METODOLOGÍA

La investigación se realizó en la Unidad de Investigaciones Biomédicas (UNIB)

ubicada en la Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara en conjunto con la consulta de endocrinología del Hospital Pediátrico “José Luis Miranda” de la ciudad de Santa Clara. El estudio consistió en determinar el comportamiento del sistema de defensa antioxidante en niños obesos. La comparación se estableció con un grupo control conformado por niños supuestamente sanos.

Se procesaron un total de 190 muestras de suero, obtenidas de manera aleatoria, teniendo en cuenta los criterios de inclusión y exclusión establecidos para cada grupo. Las edades oscilaron entre 5 y 14 años.

Grupo 1: Niños obesos (n=87), diagnosticados según el índice de masa corporal e índice cintura-cadera.

Grupo 2: Niños sanos (n=103), provenientes de estudios de pesquisaje en el municipio de Santa Clara.

Recibido: 2-8-2014

Aprobado: 10-09-2014



Criterios de Inclusión

- Niños con diagnóstico de obesidad teniendo en cuenta el índice de masa corporal e índice de cintura cadera.
- Niños supuestamente sanos tomados como grupo control.
- Con edades comprendidas entre 5 y 14 años.
- Que sus padres o tutores no otorguen su consentimiento para la investigación

Criterios de exclusión

- Niños con alguna enfermedad crónica que pueda interferir en los resultados.
- Niños cuyos padres o tutores no otorguen el consentimiento para que el menor sea incluido en la investigación.
- Sueros con interferentes analíticos como hemólisis, lipemia o íctero.

Las determinaciones de los parámetros estudiados (actividad enzimática superóxido dismutasa (SOD) y Catalasa (CAT) y concentraciones de Glutathion reducido (GSH) y Malonildialdehído (MDA)) se realizaron a través de métodos

espectrofotométricos, con reactivos suministrados por la firma Merck (www.merck.de). La determinación de la actividad enzimática SOD, se realizó mediante la aplicación del método de Marklund (8), el cual se basa en el principio de la auto-oxidación del Pirogallol o ácido pirogálico que es un agente reductor muy activo en soluciones alcalinas. La auto-oxidación de este compuesto, en soluciones aerobias, es catalizada por el radical anión Superoxido ($O_2^{\cdot-}$) dando lugar a un compuesto amarillo-marrón que absorbe la luz a 420 nm. La actividad enzimática CAT se realizó mediante el método descrito por Aebi (9), el cual se basa en las características oxidoreductasas de esta enzima que es capaz de catalizar la descomposición del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) a agua y oxígeno. El GSH se determinó por el método de Beutler, en el cual el glutathion reducido reacciona con el colorante DTNB [5, 5'-Dithiobis (ácido 2- nitrobenzoico)] y

Recibido: 2-8-2014

Aprobado: 10-09-2014



rinde un compuesto coloreado, el TNB (ácido 5- tio- 2- nitrobenzoico) que se lee a una longitud de onda de 412 nm (10). La concentración se calcula por la curva patrón de GSH. La técnica para la determinación MDA se basó en la reacción de dos moléculas del reactivo cromogénico N-metil-2-fenil indol con una molécula de MDA a 45 °C, conduciendo a la formación de un cromóforo estable con un máximo de absorbancia a 586 nm (11). La concentración de MDA es cuantificada mediante la utilización de una curva patrón de 1, 1, 3, 3 Tetramethoxypropan. El análisis de los datos obtenidos se realizó mediante el programa estadístico SPSS versión 18.0. A partir de una base de datos se determinaron los estadísticos de grupo para cada variable en estudio y se aplicaron pruebas de normalidad según el tamaño de muestra, se demostró que los datos no cumplían una distribución gaussiana ($p < 0,05$). Para la comparación de medias se utilizaron pruebas no

paramétricas, específicamente el test de Mann-whitney, para un nivel de significación del 95% y en algunos casos del 99%. La investigación fue diseñada teniendo en cuenta las normas éticas para la investigación científica en muestras de origen humano, y considerando las particularidades de las investigaciones en niños (12); el protocolo y consentimiento informado para el estudio fueron aprobados por el Comité de Ética de la UNIB. A los padres o tutores del menor se les explicó el protocolo y los objetivos del estudio, y se les proporcionó un modelo de consentimiento informado (13).

RESULTADOS

Las determinaciones se realizaron en 190 muestras de suero. El grupo de niños obesos estuvo conformado por 87 muestras: 49 del sexo masculino y 38 del sexo femenino. Y el grupo control lo conformaron 103 muestras: 58 del sexo

Recibido: 2-8-2014

Aprobado: 10-09-2014

masculino y 45 femenino. En ninguno de los casos hubo diferencias entre géneros. Los estadísticos descriptivos ($X \pm SD$) y los resultados de la comparación de los parámetros de estrés oxidativo estudiados en niños obesos y grupo control se muestran en la Tabla 1, donde se evidencia diferencias estadísticas significativas en la SOD, CAT y GSH.

Tabla 1. Estadísticos descriptivos y resultados de la comparación entre las actividades enzimáticas SOD, CAT y concentraciones de SH y MDA en muestras de suero de niños obesos y grupo control. (Test de Mann-whitney).

	Sanos (n= 103)	Obesos (n=87)	Significación (p)
$X \pm$ SOD (\pm DS) (UAE)	5,458 \pm 3,097	3,590 \pm 1,859	0,000**
$X \pm$ CAT (\pm DS) (UAE)	30,514 \pm 18,509	26,350 \pm 18,037	0,036*
X GSH (\pm DS) (μ M)	56,857 \pm 22,427	47,979 \pm 24,720	0,014*
$X \pm$ MDA (\pm DS) (μ M)	1,164 \pm 0,473	1,567 \pm 0,122	0,068

**Significación bilateral al 99% ($p < 0,01$)

*Significación bilateral al 95% ($p < 0,05$)

La SOD mostró una disminución altamente significativa ($p < 0,01$) de un 34,22 % y la CAT y el GSH también disminuyeron significativamente ($p < 0,05$), en un 13,64 % y un 15,61 % respectivamente en el grupo de niños obesos. Las representaciones gráficas de las variaciones de las unidades enzimáticas para SOD, CAT, GSH y MDA al comparar niños sanos y obesos se observan en las figuras 1 al 3.

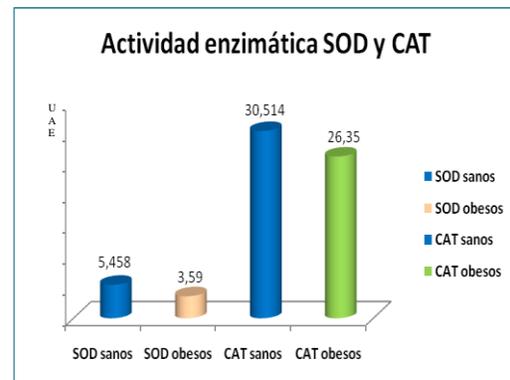


Figura 1. Comparación de las unidades de actividad enzimática Superóxido dismutasa (SOD) y Catalasa (CAT) en niños sanos y obesos.

Recibido: 2-8-2014

Aprobado: 10-09-2014

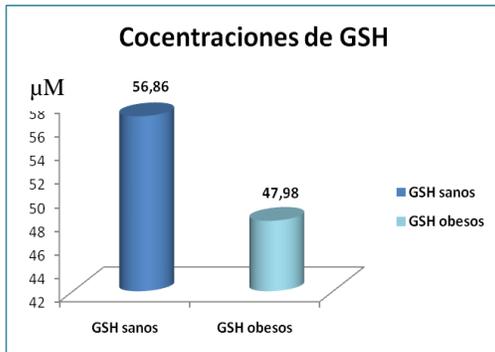


Figura 2. Concentraciones de Glutation reducido (GSH) en niños sanos y obesos.

Las concentraciones de MDA en el grupo de estudio evidenció un aumento, aunque no fue estadísticamente significativo ($p > 0,05$).

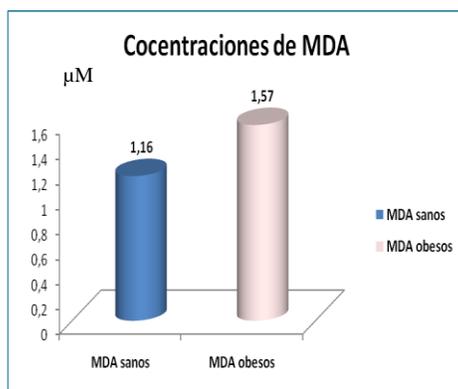


Figura 3. Concentraciones de Malonildialdehído (MDA) en niños sanos y obesos.

DISCUSIÓN

El estrés oxidante no se genera por un único mecanismo, sino por la confluencia de varios actores. Aunque no se conoce con exactitud la naturaleza de la interacción de los mismos, los datos aportados por diferentes autores pueden resumirse como una disminución de agentes antioxidantes que tiene lugar paralelamente a un aumento de elementos prooxidantes (14-16). Es poco lo que se conoce acerca la de asociación directa entre obesidad y los marcadores de daño oxidativo (17). Un posible mecanismo para esta relación podría estar en el propio tejido adiposo, siendo la hipoxia el factor desencadenante, ya que el excesivo crecimiento de este tejido durante el desarrollo de la obesidad produciría un proceso inflamatorio crónico, inducido por agrupaciones de adipocitos modificados que se convertirían en una fuente inagotable de citoquinas inflamatorias con importantes efectos bioquímicos (18).

Recibido: 2-8-2014

Aprobado: 10-09-2014



La disminución de la actividad de las enzimas SOD y CAT observada en los pacientes obesos evidencia una afectación del sistema de defensa antioxidante enzimático. Este desbalance oxidativo podría ser consecuencia de una elevada producción de especies reactivas del oxígeno (EROs) (19).

Las EROs producen diversas acciones sobre el metabolismo las cuales son consideradas el origen del daño celular. Estas pueden actuar: 1-sobre los lípidos poliinsaturados de las membranas produciendo pérdida de fluidez y lisis celular como consecuencia de la peroxidación lipídica; 2- sobre la molécula de colesterol, produciendo hidroperóxidos de colesterol y oxisteroles que están implicados en la aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares; 3- sobre los glúcidos, actúan alterando las funciones celulares tales como las asociadas a la actividad de las interleuquinas y la formación de

prostaglandinas, hormonas y neurotransmisores; 4- sobre las proteínas y los aminoácidos, actúan causando cambios en la función celular, la fragmentación química y un aumento en la susceptibilidad al ataque proteolítico; 5- sobre los ácidos nucleicos mediante la modificación de bases produciendo mutagénesis y carcinogénesis (14).

En varias investigaciones llevadas a cabo en modelos animales y en humanos se ha demostrado un aumento en la producción de diferentes especies de radicales libres asociadas a situaciones de obesidad (20). Este aumento puede ser debido a una mayor expresión de algunas subunidades de la NAD(P)H oxidasa así como del anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$) dependiente de esta enzima en el tejido adiposo blanco. También se ha observado aumento en la producción de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en este tejido y en plasma constituyendo el tejido adiposo una de las principales fuentes de EROs en situación de obesidad (20).

Recibido: 2-8-2014

Aprobado: 10-09-2014



La disminución de la actividad enzimática observada en nuestro grupo de estudio contrasta con lo reportado en diferentes investigaciones las cuales han propuesto que en el inicio del desarrollo de la obesidad en la población infantil tiene lugar un aumento de la actividad de la SOD para intentar combatir el aumento en la formación de radicales libres (21). No obstante lo anterior, otros datos publicados han comprobado que una vez establecida la obesidad se produce una disminución tanto de la actividad como de la expresión de la SOD. Así, en trabajos llevados a cabo en muestras de sujetos con peso normal y diferentes grados de obesidad se observa una disminución en la actividad SOD, estableciéndose una correlación negativa entre el IMC y la actividad de esta enzima (20).

En relación a la actividad de la CAT se ha encontrado disminución de la misma en una población de varones obesos que padecían diabetes. Por otra parte estudios realizados en modelos animales de

obesidad han demostrado la disminución tanto de la actividad como de la expresión de SOD y CAT en el tejido adiposo blanco (22).

Un mecanismo posible para la afectación de la actividad antioxidante enzimática se origina por la formación de peroxinitrito, un inhibidor capaz de afectar la actividad de una gran variedad de enzimas entre las que se encuentra la SOD, como resultado de la interacción del $O_2^{\cdot-}$ y el óxido nítrico producido en el tejido adiposo (15). Al igual que lo reportado en la literatura en el presente estudio se evidencia una disminución en los niveles de GSH. Esta biomolécula es un importante barredor de $O_2^{\cdot-}$ cuyo papel central es la protección contra el estrés oxidativo, como atrapador de RL y cofactor de diferentes enzimas antioxidantes. Además protege a los lípidos de las membranas así como los grupos tioles proteicos de la peroxidación (23). Se ha reportado que los niveles de GSH y las actividades de las enzimas

Recibido: 2-8-2014

Aprobado: 10-09-2014



GRd y GPx, las cuales son constituyentes críticos en el ciclo redox del glutatión, se ven significativamente reducidas producto al EO sugiriendo que, en estos casos, la afectación al mecanismo de defensa antioxidante puede permitir un aumento en el daño a tejido promovido por los radicales libres (24).

El MDA, es considerado un indicador básico de peroxidación lipídica la cual trae consigo la oxidación de lípidos constituyentes de la membrana celular. Aunque podría esperarse un aumento en los niveles de MDA en nuestro grupo de estudio como consecuencia de un estado de estrés oxidativo (25), los niveles de este marcador, aunque ligeramente aumentados en el grupo de niños obesos, no presentaron diferencias estadísticamente significativas al compararlos con el grupo control.

CONCLUSIONES

Se evidencia un déficit en el sistema de defensa antioxidante en el grupo de niños obesos dado por una disminución de la actividad de las enzimas antioxidantes SOD y CAT así como una reducción de los niveles de GSH, afectando su función como cofactor enzimático y barredor de EROs. Por su parte el MDA no obstante aumentar en el grupo de estudio, lo cual podría ser un indicador de daño a biomoléculas como lípidos, este aumento no resultó estadísticamente significativo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Weaver JU. Classical endocrine diseases causing obesity. *Front Horm Res.* 2008; 36: 212-28.
2. Eyzaguirre F, Silva R, Román R, Palacio A, Cosentino M, Vega V. Prevalencia de síndrome metabólico en niños y adolescentes que consultan por obesidad. *Rev Med Chile.* 2011; 139: 732-38.

Recibido: 2-8-2014

Aprobado: 10-09-2014



3. Cook S, Kaney RE. Dyslipidemia and Pediatric obesity. *Pediatr Clin North Am.* 2011; 58 (6): 1363-73.
4. D'Adamo E, Santoro N, Caprio S. Metabolic Syndrome in pediatrics: old concepts revised, new concepts discussed. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2009; 38 (3): 549-63.
5. De Tursi L, Vázquez A, Vázquez A, Sáez G, Mahmoud A, Gumbau V. Estrés oxidativo; estudio comparativo entre un grupo de población normal y un grupo de población obesa mórbida. *Nutr Hosp.* 2013; 28 (3): 671-675.
6. Kelishadi R, Hashemi M, Mohammadifard N, Asgary S, Khavarian N. Association of changes in oxidative and proinflammatory states with changes in vascular function after a lifestyle modification trial among obese children. *Clin Chem.* 2008; 54: 147-53.
7. Alfonso J, Heredia D, Fernández D, Ballesteros M, González E, Lara M. Niveles de la enzima superóxido dismutasa en niños normotensos, prehipertensos e hipertensos. *Acta Bioquim Clín Latinoam.* 2012; 46 (3): 365-73.
8. Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in autoxidation of pyrogallol as a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem.* 1990; 47: 469-474.
9. Aebi H. *Catalase Methods of Enzymatic Analysis II.* New York: Academic Press; 1974.
10. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem.* 1968; 25 (1): 192-205.
11. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Meth. Enzymol.* 1990; 186: 407 - 421.
12. Manzini JL. Declaración de Helsinki: Principios éticos para la

Recibido: 2-8-2014

Aprobado: 10-09-2014



- investigación médica sobre sujetos humanos. Análisis de la 5° Reforma, aprobada por la Asamblea General de la Asociación Médica Mundial en octubre del año 2000 en Edimburgo. En: Fernando Lolas S. Álvaro Quezada S. Editores. Pautas éticas de investigación en sujetos humanos: nuevas perspectivas. Chile: Serie Publicaciones; 2003.
13. Rodríguez E. El consentimiento informado en el uso de muestras biológicas humanas y de registros médicos. En: Lolas F, Quezada A, (eds.) Pautas éticas de investigación en sujetos humanos: nuevas perspectivas. Santiago de Chile: Programa Regional de Bioética OPS/OMS; 2003.
14. Heredia D, Fernández D, Alfonso J, Ballesteros M. El estrés oxidativo en la Insuficiencia Renal asociada a la Hipertensión. Rev Cubana Invest Biomed. 2012; 31(3).
15. Fernández D, Heredia D, Alfonso J, Cruz R, López J. Comportamiento de parámetros bioquímicos de estrés oxidativo en pacientes con Insuficiencia Renal Crónica. Med Lab. 2012; 4(2): 4-9
16. López-Uriarte P, Nogués R, Saez G, Bulló M, Romeu M, Masana L. Effect of nut consumption on oxidative stress and the endothelial function in metabolic syndrome. Clin Nutr. 2010; 29: 373-80.
17. Hopps E, Noto D, Caimi G, Averna MR. A novel component of the metabolic syndrome: The oxidative stress. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2010; 20: 72-7.
18. Ramos L, Shintani A, Ikizler T, Himmelfarb J. Oxidative stress and inflammation are associated with adiposity in moderate to severe CKD. J Am Soc Nephrol. 2008; 19:593-599.
19. Vincent H, Innes K, Vincent K. Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity. Diabetes Obes Metab. 2007; 9: 813-39.

Recibido: 2-8-2014

Aprobado: 10-09-2014



20. Codoñer-Franch P, Boix-García L, Simo´-Jorda´ R, Del Castillo-Villaescusa C, Maset-Maldonado J, Valls-Belle´s V. Is obesity associated with oxidative stress in children? *Int J Pediatr Obes.* 2010; 5: 56–63.
21. Kelishadi R, Hashemi M, Mohammadifard N, Asgary S, Khavarian N. Association of changes in oxidative and proinflammatory states with changes in vascular function after a lifestyle modification trial among obese children. *Clin Chem.* 2008; 54: 147–53.
22. Holt EM, Steffen LM, Moran A, Basu S, Steinberger J, Ross JA. Fruit and vegetable consumption and its relation to markers of inflammation and oxidative stress in adolescents. *J Am Diet Assoc.* 2009; 109: 414–21.
23. Cerdá C, Salvador A, Ocete MD, Torregrosa R, Fandos-Sánchez M, Sáez G. Estrés oxidativo, envejecimiento y cáncer. En: Ramon J, Pamplona R, Sastre J. *Biogerontología Médica.* Madrid: Editorial Ergon; 2009.
24. Liyun Y, Neil K. Glutathione in liver diseases and hepatotoxicity. *Mol Aspects Med.* 2009; 30 (1-2): 29- 41.
25. Talón S, Codoñer P, Navarro A, Valls V. Resistencia insulínica y estrés oxidativo en niños obesos. *Rev Pediatr Aten Primaria.* 2010; 12(suppl.19): e77.

Recibido: 2-8-2014

Aprobado: 10-09-2014