



ORIGINAL BREVE/Sección biológica

Peroxidación lipídica en la membrana de los linfocitos y oxidación proteica en el suero de personas ancianas, ¿marcadores potenciales de fragilidad y dependencia? Resultados preliminares[☆]



Marie Christine Pereira^{a,*}, Ramón Miralles^b, Ester Serra^c, Antoni Morros^d,
José Ramón Palacio^c y Paz Martínez^c

^a Servicio de Geriátría y Cuidados Paliativos, Centro Sociosanitario El Carme, Badalona Serveis Assistencials, Badalona, España

^b Servicio de Geriátría del Parc de Salut Mar, Centro Fòrum, Hospital del Mar y Hospital de la Esperanza, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España

^c Unidad de Inmunología, Instituto de Biotecnología y Biomedicina (IBB), Universidad Autónoma de Barcelona, Bellaterra, Barcelona, España

^d Unidad de Biofísica, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular Universidad Autónoma de Barcelona, Bellaterra, Barcelona, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 10 de enero de 2015

Aceptado el 6 de marzo de 2015

On-line el 18 de agosto de 2015

Palabras clave:

Estrés oxidativo

Peroxidación lipídica

Malondialdehído

Anciano

RESUMEN

Objetivo: Estudiar la relación entre peroxidación lipídica de la membrana linfocitaria, oxidación proteica y diferentes marcadores de fragilidad y dependencia.

Métodos: La muestra estaba compuesta por 15 ancianos de un centro sociosanitario, que no habían sufrido ningún proceso agudo reciente. Valoración geriátrica: capacidad funcional (índices de Barthel y Lawton), comorbilidad (índice de Charlson) y función cognitiva (*Mini Mental State Examination de Folstein*). La fragilidad se estimó mediante el *Hospital Admission Risk Profile* (alto riesgo de fragilidad 4-5 puntos, intermedio/bajo 0-3 puntos) y la Escala de Fragilidad Canadiense de Rockwood (fragilidad leve <6, fragilidad intermedia/severa ≥ 6). La peroxidación lipídica se estudió mediante determinación de dienos y trienos conjugados. El análisis de la oxidación proteica se realizó mediante la determinación de malondialdehído unido a proteínas plasmáticas, corregido por la cuantificación de proteínas totales.

Resultados: Los ancianos con alto riesgo de fragilidad según el *Hospital Admission Risk Profile* presentaron valores medios de dienos conjugados del $7,94 \pm 1,32\%$; de trienos $1,75 \pm 0,51\%$ y de malondialdehído unido a proteínas plasmáticas $141,9 \pm 27,3$ nmol/g; en los de riesgo intermedio/bajo, estos valores eran $4,96 \pm 2,77\%$ ($p=0,035$), $1,37 \pm 0,78\%$ ($p=0,337$) y $96,4 \pm 31,5$ nmol/g ($p=0,022$), respectivamente. En aquellos con fragilidad intermedia/severa según la Escala de Fragilidad Canadiense de Rockwood, estos valores fueron $7,06 \pm 2,18\%$; $1,73 \pm 0,50\%$ y $119,6 \pm 37,9$ nmol/g; y en los de fragilidad leve $2,56 \pm 1,48\%$ ($p=0,014$); $0,61 \pm 0,58\%$ ($p=0,020$) y $173,2 \pm 51,9$ nmol/g ($p=0,144$), respectivamente. Existió buena correlación entre la puntuación de *Hospital Admission Risk Profile* y el malondialdehído unido a proteínas plasmáticas ($r=0,70$; $p=0,01$) y entre la puntuación de la Escala de Fragilidad Canadiense de Rockwood y los dienos conjugados ($r=0,65$; $p=0,01$).

Conclusiones: Los ancianos más frágiles parecen presentar mayor grado de peroxidación lipídica, lo que podría considerarse un marcador de fragilidad.

© 2015 SEGG. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Lipid peroxidation in the lymphocyte membrane and protein oxidation in the serum of elderly people. Are they potential markers of frailty and dependence? Preliminary results

A B S T R A C T

Keywords:

Oxidative stress

Lipid peroxidation

Objective: To study the relationships between lipid peroxidation of the lymphocyte membrane, protein oxidation and different markers of frailty and dependence.

[☆] Trabajo presentado en el 56 Congreso de la Sociedad Española de Geriátría y Gerontología. Barcelona, 21-23 de mayo de 2014. Premio Pañella Casas 2014. Área de Ciencias Biológicas.

* Autora para correspondencia.

Correo electrónico: mcmjpereira@gmail.com (M.C. Pereira).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.regg.2015.03.002>

0211-139X/© 2015 SEGG. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Methods: The sample consisted of 15 elderly patients in an intermediate and long-term care center, who had not suffered any acute process recently. The geriatric assessment included, functional capacity (Barthel and Lawton indexes), comorbidity (Charlson index), and cognitive function (Mini Mental State Examination of Folstein). The frailty was estimated by the Hospital Admission Risk Profile (high risk of frailty 4–5 points, intermediate/low 0–3 points) and Frailty Scale of Rockwood (mild frailty < 6, intermediate frailty/severe ≥ 6). Lipid peroxidation was studied by determination of conjugated dienes and trienes. Analysis of protein oxidation was performed by determining malondialdehyde bound to plasma proteins, corrected by total protein quantification.

Results: Elderly patients at high risk of frailty according to Hospital Admission Risk Profile presented mean values of conjugated dienes of $7.94 \pm 1.32\%$, trienes of $1.75 \pm 0.51\%$, and malondialdehyde bound to plasma proteins of 141.9 ± 27.3 nmol/g. In the group of intermediate/low risk, these values were $4.96 \pm 2.77\%$ ($P = .035$), $1.37 \pm 0.78\%$ ($P = .337$) and 96.4 ± 31.5 nmol/g ($P = .022$), respectively. In those with intermediate/severe frailty according to the Frailty Scale of Rockwood, these values were $7.06 \pm 2.18\%$; $1.73 \pm 0.50\%$ and 119.6 ± 37.9 nmol/g, respectively, and in those with mild frailty $2.56 \pm 1.48\%$ ($P = .014$); $0.61 \pm 0.58\%$ ($P = .020$) and 173.2 ± 51.9 nmol/g ($P = .144$), respectively. There was good correlation between the Hospital Admission Risk Profile score and malondialdehyde bound to plasma proteins ($r = 0.70$; $P = .01$) and between the Frailty Scale of Rockwood score and conjugated dienes ($r = 0.65$; $P = .01$).

Conclusions: Elderly patients with a higher degree of frailty appear to have greater levels of lipid peroxidation, which could be considered a marker of frailty.

© 2015 SEGG. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

El metabolismo celular está constituido por reacciones de oxidación-reducción que generan radicales libres o especies reactivas de oxígeno capaces de alterar las macromoléculas biológicas. Existen antioxidantes naturales celulares, pero si estos se ven superados aparece el llamado estrés oxidativo. Este proceso parece relacionarse con el envejecimiento y la aparición de enfermedades y procesos degenerativos^{1,2}. Para medirlo, se han definido biomarcadores, entre los cuales destacan la peroxidación lipídica y el malondialdeído (MDA) unido a proteínas, este último procedente de la oxidación lipídica de las membranas celulares^{1–4}. En humanos, se ha relacionado el aumento del estrés oxidativo con la edad⁵, la aparición de fragilidad⁶, dependencia severa³ y mayor mortalidad⁷. Los linfocitos son células cuyos lípidos de membrana son ricos en ácidos grasos poliinsaturados, lo que los hace más vulnerables a la peroxidación lipídica⁴. Este trabajo tiene por objetivo estudiar la posible relación entre oxidación lipídica de la membrana linfocitaria y diferentes parámetros clínicos de fragilidad y dependencia. Se trata de un estudio piloto realizado con un grupo reducido de ancianos y cuyos resultados preliminares se presentan a continuación.

Pacientes y métodos

Se estudiaron 15 pacientes ingresados en un centro sociosanitario (9 en la unidad de larga estancia [60%], 3 en convalecencia [20%] y 3 en hospital de día [20%]). Los criterios de inclusión fueron tener una edad > 70 años y no haber presentado ninguna enfermedad o proceso agudo en el mes anterior. En el momento de su inclusión en el estudio todos los pacientes estaban estables; 6 (40%) habían sufrido una fractura en los 3 meses anteriores y 2 (13,3%) tenían demencia avanzada. Los 7 restantes (46,6%) presentaban en mayor o menor grado cambios propios del envejecimiento pero sin una dolencia principal predominante. Se registró la edad, el sexo y la comorbilidad (índice de Charlson)⁸.

Se realizó una valoración geriátrica, en la que se evaluó el nivel de dependencia para las actividades básicas de la vida diaria en el momento de su inclusión en el estudio (índice de Barthel)⁹ y para actividades instrumentales (AIVD) (índice de Lawton)¹⁰. Estas últimas referidas a la situación previa del anciano antes de

su ingreso en el centro. La función cognitiva se valoró mediante el *Mini Mental State Examination de Folstein* (MMSE)¹¹; cuando este no pudo realizarse por falta de colaboración o afasia se equiparó a deterioro cognitivo severo y se adjudicó una puntuación de cero. El grado de fragilidad de los pacientes se estimó mediante el *Hospital Admission Risk Profile* (HARP)¹², que combina la edad con las AIVD y con una versión abreviada del MMSE, obteniéndose una puntuación entre 0 y 5 puntos. Dicho instrumento fue diseñado para estimar el riesgo de pérdida de autonomía durante una hospitalización en pacientes ancianos, concepto asimilable al de fragilidad. La puntuación de 0 representa bajo riesgo de pérdida de independencia y la de 5 el mayor riesgo. En este estudio las puntuaciones obtenidas en el HARP fueron categorizadas de la siguiente manera: alto riesgo de fragilidad (4–5) y riesgo de fragilidad baja-intermedia (0–3). También se utilizó la Escala Clínica de Fragilidad Canadiense de Rockwood (EFC)¹³ que clasifica a los ancianos en 7 categorías, correspondiendo la primera a los «muy sanos» y la séptima a aquellos con «fragilidad severa o extrema». En el presente estudio los pacientes fueron clasificados en no frágiles/fragilidad leve (categorías 1–5) y fragilidad intermedia/severa (categorías 6 y 7).

Se estudió la peroxidación lipídica de la membrana plasmática linfocitaria, determinando la cantidad de dienos y trienos conjugados mediante espectrofotometría UV, cuyo resultado se normalizó respecto a la concentración lipídica total. Se realizó la determinación de MDA unido a proteínas plasmáticas mediante la técnica de TBARS (Tiobarbituric Binding Acid Reactives Species) y se normalizó por la cantidad de proteínas totales, obteniendo el cociente MDA-prot expresado en nmol/g.

A todos los participantes se les solicitó la firma de un consentimiento informado. Si estos no lo podían dar, dicho consentimiento se solicitó al familiar responsable del paciente. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética y Ensayos Clínicos de la institución.

Al tratarse de una muestra de tamaño reducido y con una mayoría de variables que no seguían una distribución normal, los resultados se analizaron con pruebas estadísticas no paramétricas. Las variables cuantitativas se expresaron mediante la mediana y el rango intercuartílico, o la media y su desviación estándar, y las cualitativas mediante el número absoluto y su proporción en forma de porcentaje. Para estudiar la relación entre variables cualitativas y cuantitativas (comparación de medias) se utilizó la prueba de la U de Mann-Whitney y para la relación entre variables cuantitativas el coeficiente de correlación de Spearman. Se consideró como nivel de significación estadística un valor de $p < 0,05$.

Tabla 1Diferencias de niveles de marcadores oxidativos según grupos definidos mediante el instrumento *Hospital Admission Risk Profile*^a y la Escala Clínica de Fragilidad Canadiense^b

	HARP (riesgo de fragilidad bajo o intermedio) (n = 7)	HARP (alto riesgo de fragilidad) (n = 7)	p
Dienos conjugados (%) ^c	4,96 ± 2,77	7,94 ± 1,32	0,035
Trienos conjugados (%) ^c	1,37 ± 0,78	1,75 ± 0,51	0,337
Malondialdehído (MDA) unido a proteínas (nmol/g) ^c	96,4 ± 31,5	141,9 ± 27,3	0,022
	EFC (no frágil/fragilidad leve) (n = 3)	EFC (fragilidad intermedia/severa) (n = 12)	p
Dienos conjugados (%) ^c	2,56 ± 1,48	7,06 ± 2,18	0,014
Trienos conjugados (%) ^c	0,61 ± 0,58	1,73 ± 0,50	0,020
Malondialdehído (MDA) unido a proteínas (nmol/g) ^c	173,2 ± 51,9	119,6 ± 37,9	0,144

DE: desviación estándar; EFC: Escala Clínica de Fragilidad Canadiense; HARP: *Hospital Admission Risk Profile*.^a HARP medida indirecta de fragilidad (riesgo de fragilidad bajo o intermedio [HARP 0-3 puntos] y alto riesgo de fragilidad [HARP 4-5 puntos]) (ver apartado de pacientes y métodos).^b EFC no frágil/fragilidad leve, categorías 1-5 y fragilidad intermedia/severa, categorías 6 y 7 de la EFC (ver apartado de pacientes y métodos).^c Media ± DE.

Resultados

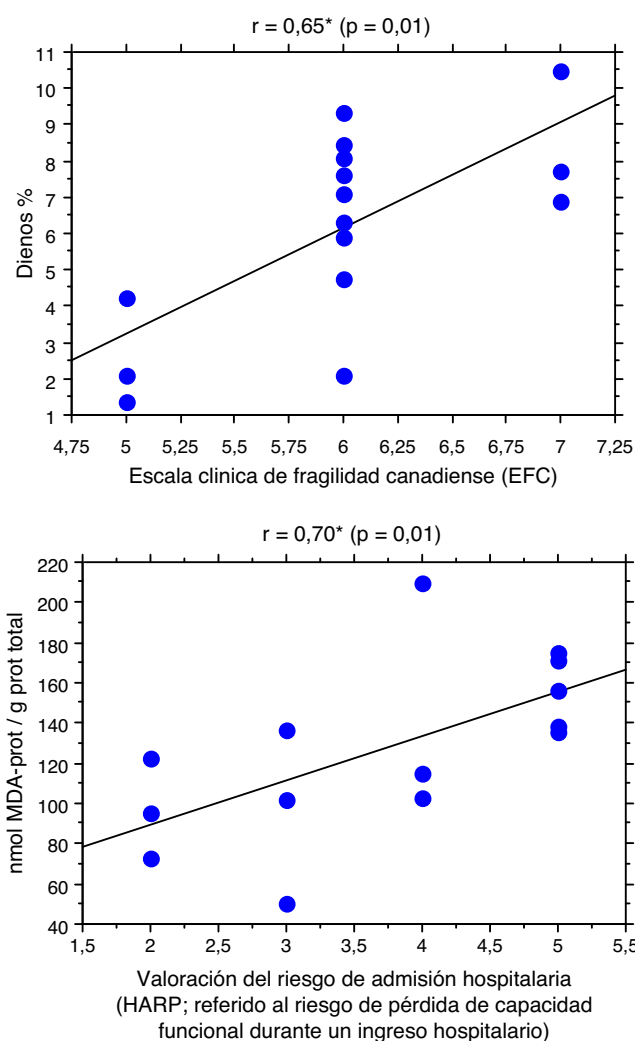
La edad media fue de 88 años (DE 9,78). Los participantes presentaron una dependencia moderada para las AIVD (índice de Lawton 4 [1-6]) y una dependencia leve-moderada para las actividades básicas de la vida diaria (índice de Barthel 80 [47-95]). La comorbilidad fue moderada-alta (Charlson 2 [1-3]) y la mediana de la puntuación del MMSE fue de 21,5 (15-27), límite entre normalidad y deterioro cognitivo moderado. La mayoría de los pacientes presentaron algún grado de fragilidad: según el HARP 7 (50%) riesgo de fragilidad bajo/intermedio y 7 (50%) alto riesgo de fragilidad; según la EFC 3 (20%) no frágiles/fragilidad leve y 12 (80%) fragilidad intermedia/severa. La media del porcentaje de dienos conjugados fue del 6,9% (4,23-8,1), de trienos del 1,70% (0,77-2,08) y del MDA-prot de 128 nmol/g (101,6-156,4). En la [tabla 1](#) puede observarse que los valores medios obtenidos en los marcadores de estrés oxidativo de la membrana linfocitaria son significativamente superiores en los pacientes de mayor fragilidad definidos tanto con el HARP (dienos) como con la EFC (dienos y trienos). El MDA-prot también muestra niveles superiores en el grupo de alto riesgo de fragilidad según el HARP, pero no se hallaron diferencias significativas entre los grupos de la EFC.

Existió una buena correlación entre las escalas de fragilidad y algunos de los parámetros de estrés oxidativo estudiados ([fig. 1](#)). Las correlaciones con el resto de las variables estudiadas (edad, índices de Lawton, de Barthel, de Charlson y MMSE) fueron escasas y poco significativas.

Discusión

Estos resultados muestran una posible relación entre los marcadores oxidativos estudiados y la fragilidad en un grupo de pacientes ancianos. Por tratarse de un estudio piloto con una muestra limitada, nuestros resultados deberían corroborarse con un trabajo más extenso. Aun así, las diferencias entre los valores de los parámetros oxidativos estudiados en los distintos grupos de fragilidad alcanzaron significación estadística en 2 escalas diferentes de fragilidad. Estos resultados coinciden con estudios previos que evidenciaron una relación entre marcadores de estrés oxidativo, incluyendo MDA, y la fragilidad medida con los criterios de Fried¹⁴. En nuestro estudio, el MDA fue significativamente más elevado en el grupo de pacientes con alto riesgo de fragilidad según el HARP, pero no hubo diferencias significativas al compararlo entre los grupos definidos por la EFC, probablemente debido al reducido tamaño de la muestra y a diferencias entre las escalas empleadas. Sin embargo, los valores de los dienos conjugados fueron

significativamente superiores en los pacientes más frágiles según ambas escalas y muestran una correlación significativa con los valores de la EFC, al igual que el HARP y los valores de MDA-prot ([fig. 1](#)).

**Figura 1.** Correlación entre escalas de fragilidad con los dienos conjugados y con el malondialdehído unido a proteínas (MDA-prot).

*Coeficiente de correlación de Spearman.

Este estudio no ha encontrado una relación entre estrés oxidativo y edad, probablemente debido al estrecho rango de edad de la muestra. Otros autores han demostrado una relación entre el estrés oxidativo y la edad al comparar a ancianos con individuos más jóvenes^{4,5} pero no al comparar ancianos entre sí. Recientemente, se ha sugerido que los individuos con edades muy avanzadas podrían presentar un nivel de estrés oxidativo inferior y sería precisamente este hecho el que explicaría su longevidad¹⁵. Tampoco se ha evidenciado una correlación entre el estrés oxidativo y el nivel de dependencia (AIVD/actividades básicas de la vida diaria). Probablemente esto se deba al tamaño de la muestra, ya que estudios previos con mayor número de pacientes, sí que han hallado esta relación³.

Como limitaciones del presente estudio cabe destacar, en primer lugar, el reducido tamaño de la muestra, por tratarse de un estudio piloto. En segundo lugar, el HARP y la EFC podrían no ser instrumentos ideales para medir específicamente fragilidad, ya que en ambos instrumentos los conceptos fragilidad y dependencia tienden a solaparse. Este hecho no sucede en otros estudios en los que se utilizaron los criterios de Fried para medir la fragilidad⁶. Por último, recordar que las relaciones entre los diversos marcadores implicados en el estrés oxidativo y el envejecimiento y la patogenia de las enfermedades son extremadamente complejas y no dependen de un solo marcador. Este hecho condiciona muchas de las dificultades que existen para hallar relaciones entre marcadores oxidativos y parámetros clínicos.

Finalmente, este trabajo muestra que los ancianos con mayor fragilidad pueden presentar niveles más elevados de peroxidación lipídica en la membrana de sus linfocitos (dienes y trienos), lo que podría considerarse un marcador biológico de fragilidad y/o dependencia. Para confirmar esta hipótesis, sería necesaria una muestra mayor y más heterogénea de ancianos.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe ningún potencial conflicto de intereses relacionado con el artículo.

Bibliografía

1. Elejalde Guerra JI. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *An Med Interna (Madrid)*. 2001;18:326–35.
2. Naudí A, Caro P, Barja G, Pamplona R. Bases biológicas del proceso de envejecimiento y la longevidad. En: Rodríguez-Mañas L, editor. *Actualizaciones en aspectos básicos y clínicos del envejecimiento y la fragilidad*. Madrid: Eds: Sociedad Española de Medicina Geriátrica; 2009. p. 21–42.
3. De Gonzalo-Calvo D, Luxán-Delgado B, Rodríguez-González S, García-Macia M, Suárez FM, Solano JJ, et al. Oxidative protein damage is associated with severe functional dependence among the elderly population: A principal component analysis approach. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2012;67:663–70. 10.1093/gerona/glr215.
4. Alonso-Fernandez P, de la Fuente M. Marcadores inmunológicos de envejecimiento. *Rev Esp Geriatr Gerontol*. 2008;43:167–79.
5. Gil L, Siems W, Mazurek B, Gross J, Schroeder P, Voss P, et al. Age-associated analysis of oxidative stress parameters in human plasma and erythrocytes. *Free Radical Res*. 2006;40:495–505.
6. Wu IC, Shiesh SC, Kuo PH, Lin XZ. High oxidative stress is correlated with frailty in elderly chinese. *J Am Geriatr Soc*. 2009;57:1666–71.
7. Semba RD, Ferruci L, Sun K, Walston J, Varadhan R, Guralnik JM, et al. Oxidative stress is associated with greater mortality in older women living in the community. *J Am Geriatr Soc*. 2007;55:1421–5.
8. Charlson M, Pompei P, Ales KL, McKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: Development and validation. *J Chron Dis*. 1987;40:373–83.
9. Granger CV, Albrecht GL, Hamilton BB. Outcome of comprehensive medical rehabilitation: Measurement by PULSES profile and the Barthel index. *Arch Phys Med Rehabil*. 1979;60:145–54.
10. Lawton MP, Brody EM. Assessment of older people: Self-maintaining and instrumental activities of daily living. *Gerontologist*. 1969;9:179–86.
11. Bermejo F, Morales JM, Valerga C, del Ser T, Artolazábal J, Gabriel R. Comparación entre dos versiones españolas abreviadas de evaluación del estado mental en el diagnóstico de demencia. Datos de un estudio en ancianos residentes en la comunidad. *Med Clin (Barc)*. 1999;112:330–4.
12. Sager MA, Rudberg MA, Jajaluddin M, Franke T, Inouye SK, Landefeld S, et al. Hospital Admission Risk Profile (HARP): Identifying older patients at risk for functional decline following acute medical illness and hospitalization. *J Am Geriatric Soc*. 1996;44:251–7.
13. Rockwood K, Song X, MacKnight C, Bergman H, Hogan DB, McDowell I, et al. A global clinical measure of fitness and frailty in elderly people. *CMJA*. 2005;173:489–95.
14. Inglés M, Gambini J, Carnicero JA, García-García FJ, Rodríguez-Mañas L, Olaso-Gonzalez G, et al. Oxidative stress is related to frailty, not to age or sex, in a geriatric population: Lipid and protein oxidation as biomarkers of frailty. *J Am Geriatr Soc*. 2014;62:1324–8. Doi:10.1111/jgs.12876. Epub 2014 Jun 24.
15. Belenguer A, Mohamed K, Avellana J, Borrás C, Sanchis P, Viña J. El estrés oxidativo como predictor de longevidad: estudio de casos y controles. *Rev Esp Geriatr Gerontol*. 2014;49:5. Doi: 10.1016/j.regg.2014.05.011.