

Daño oxidativo en un modelo experimental de hiperglicemia e hiperlipidemia inducida por sacarosa en ratas wistar

Oxidative damage in an experimental model of saccharose-induced hyperglycemia and hyperlipidemia in Wistar rats

MSc. Lic. Alcides González Gil,^I MSc. Yisel González Madariaga,^{II} Dra. Grecia Martínez Leyva,^{III} Dr. Felipe Hernández Ugalde,^{IV} Dr. Adalberto Suárez González^{VI}

^I Universidad de Ciencias Médicas de Matanzas. Matanzas, Cuba.

^{II} Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara. Santa Clara, Cuba.

^{III} Policlínico Universitario Samuel Fernández. Matanzas. Matanzas, Cuba.

^{IV} Policlínico Universitario Carlos Verdugo. Matanzas. Matanzas, Cuba.

^V Policlínico Universitario René Vallejo Ortiz. Jovellanos. Matanzas, Cuba.

RESUMEN

Se realizó un estudio experimental de casos y controles en el período comprendido entre noviembre de 2010 y mayo de 2011, con el objetivo de caracterizar el comportamiento del daño oxidativo en un modelo experimental de hiperglicemia e hiperlipidemia inducida por sacarosa en ratas wistar en la Unidad de Toxicología Experimental de la Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara. Para ello se utilizaron ratas machos como modelo biológico, con el fin de evaluar la actividad oxidativa inducida por sacarosa. El modelo fue establecido a partir de la administración de una dieta rica en sacarosa, para lo cual se determinaron los porcentajes de hemólisis, fotohemólisis y la susceptibilidad a sustancias con efectos hemolíticos. Se encontró aumento en los valores de glucemia y triacilglicéridos de las ratas del grupo estudio, con diferencias significativas con respecto al grupo control. Asimismo, se obtuvieron diferencias significativas entre ambos grupos estudiados en los test de susceptibilidad a la hemólisis y la fotohemólisis. Se produjo incremento significativo en los niveles de glicemia y triacilglicéridos relacionados con la dieta rica en sacarosa. Se observaron incrementos significativos en los valores de los porcentajes de hemólisis en el ensayo de susceptibilidad a la hemólisis y la fotohemólisis y en el primer caso se correspondió con el grupo sometido a la dieta rica en sacarosa. Se observó una fuerte correlación entre los

niveles de triglicéridos del grupo estudio en el último mes de experimentación y los valores obtenidos en el test de fotohemólisis.

Palabras clave: estrés oxidativo, eritrocito, modelo experimental, hemólisis, fotohemólisis.

ABSTRACT

We carried out an experimental research of cases and controls in the period from November 2010 to May 2011, with the objective of characterizing the behavior of the oxidative damage in an experimental model of saccharose-induced hyperglycemia and hyperlipidemia in Wistar rats in the Unit of Experimental Toxicology of the Medical Sciences University of Villa Clara. We used male rats as biological model, with the objective of evaluating the saccharose- induced oxidative activity. The model was set up on the basis of a diet rich in saccharose, and for that there were calculated the hemolysis, photohemolysis percentages and the susceptibility to substances with hemolytic effects. We found an increase in the glycemia and triacilglyceride values of the rats in the studied group, with significant differences in those of the control group. There were also found significant differences between the both studied groups in the tests of susceptibility to the hemolysis and photohemolysis. There it was a significant increase in the glycemia and triacilglycerides levels related with the saccharose-enriched diet. We observed significant increases in the percentages values of the hemolysis in the tests of susceptibility to the hemolysis and photohemolysis, and in the first case it corresponded with the group receiving a saccharose- enriched diet. There it was a strong correlation between the triglycerides level of the studied group in the last month of the research and the values obtained in the photohemolysis test.

Key words: oxidative stress, erythrocyte, experimental model, hemolysis, photohemolysis.

INTRODUCCIÓN

Los resultados de algunas investigaciones recientes hacen referencia a una posible relación entre la generación de estrés oxidativo y los mecanismos moleculares propuestos para explicar los daños causados por la hiperglicemia crónica, los cuales son varios y dependen en gran medida de los órganos y tejidos que se analicen.⁽¹⁾

El uso de animales como las ratas wistar, resulta sumamente útil para discernir entre los posibles mecanismos fisiopatológicos involucrados en las alteraciones metabólicas derivadas del estrés oxidativo producto de la dieta ingerida, además de constituir una valiosa herramienta para comprender sus características histológicas y ensayar nuevas terapias. Por tanto, gran parte de los trabajos se desarrollan en

estos roedores, dada su similitud biológica con el hombre y el gran conocimiento que se tiene a todos los niveles sobre los mismos.^(2,3)

Entre los diversos modelos para detectar y entender los efectos de las especies reactivas de oxígeno y la actividad de compuestos secuestradores de radicales libres y su relación con dietas hiperglicemiantes, destaca el modelo del eritrocito que resulta excelente para el estudio de la toxicidad sobre biomembranas, pues constituyen un tipo de muestra fácil de obtener y de preparar. Además de representar un modelo celular muy simple, sus membranas desarrollan suficientes funciones para ser consideradas representativas de las membranas plasmáticas celulares en general,⁽⁴⁾ lo que hace que su estructura y función sean muy susceptibles a sufrir alteraciones; debido a su elevado contenido en ácidos grasos polinsaturados y proteínas, siendo un blanco fisiológico del ataque de los radicales libres y especies reactivas de oxígeno.⁽⁵⁻⁹⁾

Los eritrocitos están particularmente expuestos al estrés oxidativo al ser transportador de oxígeno, tener un elevado contenido de ácidos grasos y proteínas en sus membranas, y poseer una elevada concentración de hemoglobina intracelular que actúa como promotora de procesos oxidativos. Los ensayos de hemólisis y fotohemólisis se usan en la actualidad para conocer los mecanismos de toxicidad de los radicales libres sobre las membranas celulares, pues los eritrocitos son menos sensibles que las células nucleadas a las cortas longitudes de onda de la radiación ultravioleta, por tanto una mayor dosis de esta radiación puede ser empleada en un tiempo más prolongado. La radiación UV causa hemólisis de los eritrocitos en presencia de un agente fotosensibilizante al provocar la rotura de la membrana del eritrocito hasta desencadenar la lisis celular. Este hecho ha permitido que las células rojas sanguíneas hayan sido empleadas por muchos investigadores como modelo de estudio de fototoxicidad bajo la acción de agentes con capacidad fotosensibilizante como la clorpromazina. El bajo costo del modelo, así como la rapidez y facilidad para obtener los resultados, hacen a los eritrocitos muy atractivos para el *screening* fototóxico.^(6,10-13)

Por esta razón, al constituir los eritrocitos un buen modelo experimental para el estudio de los mecanismos de lesión por parte de los radicales libres y determinar el potencial antioxidante de diversos compuestos, los autores se proponen determinar el comportamiento del daño oxidativo sobre biomembranas en un modelo experimental de hiperglicemia e hiperlipidemia inducida por sacarosa en ratas wistar.

MÉTODOS

Se realizó un estudio experimental de casos-controles en el período comprendido entre noviembre de 2010 y mayo de 2011, con el objetivo de caracterizar el comportamiento del daño oxidativo en un modelo experimental de hiperglicemia e hiperlipidemia inducida por sacarosa en ratas wistar. Se utilizaron ratas wistar machos, con peso corporal entre 150 ± 5 g, como modelo biológico para evaluar actividad oxidativa inducida por sacarosa.

El modelo fue establecido a partir de la administración de una dieta rica en sacarosa. Todos los animales consumieron *ad libitum* el agua y pienso convencional

proveniente del Centro para la Producción de Animales de Laboratorio. Se formaron dos grupos experimentales de 12 animales cada uno.

Grupo I fue control negativo, que solo consumió dieta convencional, el resto de los animales (grupo II) consumió la dieta convencional, más de 35 g de sacarosa disuelta en 100 mL de agua de bebida durante un período de inducción de 4 meses (dieta rica en sacarosa-DRS).

Para el estudio se tomaron 6 animales de cada grupo (6 del grupo estudio y 6 del grupo control) empleándose un método aleatorio simple.

Muestra de sangre: se realizó para cada uno de los animales tanto del grupo DRS (6 animales) como el grupo control (6 animales), y esta se efectuó por el método de punción en los senos orbitales. Las células rojas de sangre heparinizada proveniente de los grupos experimentales, se aislaron por centrifugación.

Fueron lavadas tres veces con solución de buffer salino fosfatado isotónico hasta eliminar trazas de plasma y células blancas, para que la lisis espontánea fuese mínima. Las células limpias fueron suspendidas en buffer salino fosfatado isotónico (PBS) a razón de 1:1. Para comprobar la correcta preparación de la suspensión eritrocitaria se tomaron 50 mL de la suspensión y se añadieron 1 950 mL de agua destilada para provocar la total hemólisis de las células. Se centrifugó y la densidad óptica del sobrenadante debió ser aproximadamente 2.0. En caso contrario se ajustó con PBS o se concentraron las muestras con células rojas lavadas. La suspensión se preparó diariamente. En caso excepcional se almacenaron a 4 °C durante una semana. Esta suspensión fue utilizada en los ensayos:

- Hemólisis y susceptibilidad a la hemólisis.
- Fotohemólisis y susceptibilidad a la fotohemólisis

Hemólisis y susceptibilidad a la hemólisis

Las muestras a evaluar (6 pertenecientes al grupo DRS y 6 al grupo control) se prepararon a partir de la mezcla de PBS (1 975 mL) y eritrocitos (25 mL) para la hemólisis y una mezcla de PBS (1915 mL), eritrocitos (25 mL) y dodecil sulfato de sodio (SDS) (60 mL). Cada muestra se evaluó por duplicado. Este mismo procedimiento se realizó con el SDS al 1 % como control positivo.

Hemólisis espontánea

Las muestras fueron incubadas a temperatura ambiente durante 10 minutos. El período de incubación se terminó con una corta y rápida centrifugación (10 minutos a 2 500 rpm). El sobrenadante resultante se monitorizó fotométricamente para hemólisis a 540 nm contra un blanco (control de fragilidad) de eritrocitos en PBS (monitorización de la hemólisis espontánea). El porcentaje de hemólisis se determinó por comparación de la absorbancia del sobrenadante con las muestras controles totalmente hemolizadas con agua destilada a 540 nm.

$$\% \text{ Hemólisis} = \frac{D0}{D0_{100}} \times 100$$

Suceptibilidad a la hemólisis

Las muestras fueron incubadas a temperatura ambiente durante 10 minutos. El período de incubación se terminó con una corta y rápida centrifugación (10 minutos a 2 500 rpm). El sobrenadante resultante se monitoreó fotométricamente para hemólisis a 540 nm contra un blanco (control de fragilidad) de eritrocitos en PBS (monitorización de la hemólisis espontánea).

El porcentaje de susceptibilidad a la hemólisis se determinó por la absorbancia del sobrenadante a 540 nm.

$$\% \text{ Hemólisis} = \frac{DO}{DO_{100}} \times 100$$

Fotohemólisis espontánea

Se prepararon dos placas idénticas de cada muestra (grupo DRS y grupo control), en cada caso con 2 ml de una mezcla de la muestra de eritrocitos (25 mL) y PBS (1 975 mL). Ambas se colocaron debajo de la luz ultravioleta durante 60 minutos. Transcurrido el tiempo de exposición, las placas se dejaron 30 minutos a oscuras. Igualmente se prepararon 2 placas para cada muestra del grupo DRS y el grupo control, y estas se incubaron durante 60 minutos en la oscuridad. Posteriormente se traspasó el contenido de las placas a tubos y se centrifugó durante 5 minutos a 3 500 rpm. Para evaluar el punto final se determinó la cantidad de hemoglobina liberada en el sobrenadante a 540 nm. El sobrenadante se leyó a 540 nm contra un blanco (control de fragilidad) que contiene eritrocitos y PBS.

Susceptibilidad a la fotohemólisis

El diseño experimental fue el mismo que para fotohemólisis espontánea, pero fue empleada la clorpromazina como agente fotohemolítico. Las mezclas empleadas se prepararon a partir de PBS (1 915 mL), eritrocitos (25 mL) y clorpromacina (60 mL). La clorpromazina se preparó a partir de una ampollita de 25 mg/ml a una solución de C (0,3 mg/ml). Las muestras a evaluar, 6 pertenecientes al grupo DRS y 6 al grupo control, se prepararon a partir de la mezcla de PBS y eritrocitos.

Variables a medir

Densidad óptica (DO) a 540 nm de cada muestra. Lectura de hemoglobina (criterio de hemólisis total).

La condiciones de incubación fueron de 60 minutos bajo luz ultravioleta.

Una vez concluido el tiempo de exposición, las placas se dejaron 30 minutos a oscuras. Posteriormente se traspasó el contenido de las placas a tubos y se centrifugó durante 5 minutos (aproximadamente 3 500 rpm). Para evaluar el punto final de la hemólisis se determinó por la cantidad de hemoglobina liberada en el sobrenadante. La hemoglobina se cuantificó fotométricamente a 540 nm. El sobrenadante se leyó a 540 nm contra un blanco de eritrocitos en PBS (monitorización de la hemólisis espontánea). El 100 % de hemólisis se consiguió incubando los eritrocitos en agua destilada.

Los datos fueron procesados por el paquete estadístico SPSS para Windows versión 8.0. Se determinó la media y desviación estándar de los parámetros evaluados para cada grupo experimental. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba no

paramétrica aplicando la U de Mann Whitney y Wilcoxon como estadístico de comparación. Se consideró significancia si $p < 0,05$.

RESULTADOS

Al someter a las ratas wistar a una dieta rica en sacarosa, se obtuvieron incrementos en los valores de la glicemia en las ratas del grupo con dieta rica en sacarosa en relación a las ratas del grupo control con igual resultado en los valores de colesterol y triacilglicéridos. En el análisis del colesterol en el último mes, los valores de significación del grupo DRS en relación al grupo control comienzan a acercarse a 0,05 ($p=0,078$). En el caso de los triacilglicéridos al igual que la glicemia, se constató que en el cuarto mes las diferencias entre ambos grupos se hacen significativas con una $p=0,008$.

En los test de hemólisis y susceptibilidad a la hemólisis (tabla 1) se observa que en el primer ensayo los por cientos de hemólisis no alcanzan el 10 % en ninguno de los tiempos del estudio con un ligero aumento en las ratas del grupo control, sin embargo, en el caso de la susceptibilidad a la hemólisis, cuando se somete a las células eritrocitarias al conocido agente hemolítico dodecil sulfato de sodio (SDS), se observa mayores promedios de por cientos de hemólisis al cuarto mes del estudio en las ratas alimentadas con dieta rica en sacarosa, comparadas con las del grupo control, superándose el 100 % en ambos grupos estudiados.

Las pruebas de Mann-Whitney y Wilcoxon aplicadas en ambos test para comprobar la existencia o no de diferencias significativas entre los animales del grupo DRS y el grupo control, confirmó que existe un incremento significativo de la respuesta hemolítica del grupo DRS del tercer al cuarto mes de ensayo con respecto al grupo control.

En el ensayo de fotohemólisis espontánea (tabla 1) se obtuvieron como resultados la disminución de los por cientos de hemólisis en las ratas sometidas a la dieta rica en sacarosa en comparación con las del grupo control en los dos tiempos estudiados, con diferencias significativas entre ambos grupos ($p=0,037$)- ($p=0,004$).

En el ensayo de susceptibilidad a la fotohemólisis (tabla 1), cuando se somete a las células a un agente foto hemolítico que en este estudio fue la clorpromazina, los por cientos de hemólisis fueron muy similares entre los grupos estudiados, observándose un incremento en el último mes con respecto a tercer mes de evaluación. Sin embargo, las diferencias estadísticamente significativas se mostraron en ambos grupos por igual al aplicar el test de Wilcoxon, para el grupo DRS $p=0,043$ y para el grupo control $p=0,028$.

Tabla 1. Resultados del test de hemólisis, fotohemólisis y susceptibilidad a la hemólisis y la fotohemólisis

Grupos	Ensayos							
	Hemólisis		Susceptibilidad a la hemólisis		Fotohemólisis		Susceptibilidad a la fotohemólisis	
	% t3	% t4	% t3	% t4	% t3	% t4	% t3	% t4
DRS	1,29	1,64	66,53	117,83	4,31	9,53	2,20	5,02
Control	2,04	1,87	82,36	115,48	8,91	11,53	1,51	5,78

DISCUSIÓN

En estudios de aterosclerosis experimental mediante el suplemento de colesterol en la dieta alimenticia de diversos animales, se demostraron paralelamente enriquecimiento en colesterol de la membrana de los hematíes y la aparición de hemólisis. Relacionado con este fenómeno, Neuman y colaboradores⁽¹⁴⁾ encontraron que tanto la lisolecitina como el colesterol, dos anfipáticos naturales de los lípidos de membrana, modulaban la forma del eritrocito de una manera independiente. El enriquecimiento en colesterol afecta especialmente la fluidez de la membrana externa del eritrocito, ya que la sobrecarga de colesterol en la membrana inhibe la lisofosfatidilcolina aciltransferasa y, por lo tanto, la reparación de los fosfolípidos oxidados de la membrana celular, lo que pudiera explicar, al no existir un aumento significativo de los niveles de colesterol en los animales del estudio, los menores por cientos de hemólisis de las ratas sometidas a la dieta rica en sacarosa comparadas con el grupo control.

Otras investigaciones realizadas en tejido sanguíneo e hígado de humanos, que utilizan al eritrocito para ejemplificar su susceptibilidad a la hemólisis por su exposición al daño oxidativo, demostraron el aumento de la hemólisis producida en la esferocitosis hereditaria.⁽¹⁵⁾

En un estudio realizado por Wallinge y colaboradores⁽¹⁶⁾ demuestran que ratas normales alimentadas con dietas ricas en carbohidratos (fructosa o sacarosa) desarrollan hipertrigliceridemia con aumento del estrés oxidativo, también estas dietas producen una elevación de los niveles de ácidos grasos no esterificados, incremento del contenido de triacilglicéridos e hiperinsulinemia, resistencia insulínica y moderada adiposidad e hipertensión, lo que trae aparejado un aumento de la susceptibilidad de los eritrocitos a la hemólisis. Considerando estos resultados, los autores del presente trabajo son del criterio que por estar expuestas las ratas a esta dieta solo por cuatro meses, aún no se han establecido los efectos derivados de una exposición a largo plazo, y por tanto, no se observan daños a nivel de las membranas celulares suficientes como para provocar su ruptura e incrementar la hemólisis de manera significativa, en estos primeros meses la barreras antioxidantes naturales de la célula actúan para contrarrestar los niveles de radicales libres que se producen por el suministro de una dieta hiperglucídica.

El daño oxidativo perturba la homeostasis iónica y facilita la deshidratación celular. Estos cambios disminuyen la deformabilidad de la célula roja, lo que a su vez impide su paso a través de la micro-circulación generando hemólisis.^(17,18)

Evaluando el comportamiento del test de fotohemólisis espontánea y su relación con la dieta rica en sacarosa, se puede plantear que aunque ocurre hemólisis en las muestras estudiada, el efecto de la aplicación de la dieta no parece ser la causa directa de la lisis celular, pues se presentaron diferencias significativas entre el comportamiento de las muestras de los grupos DRS y control con mayores porcentajes en las ratas del grupo control. El incremento del tiempo de exposición de los glóbulos rojos a la luz ultravioleta, que en el estudio fue de 60 minutos, puede ser capaz de producir la lisis celular, aspecto que se debe tener en cuenta si partimos del hecho que cuatro meses de suministro de DRS es insuficiente para lograr un ambiente de daño oxidativo significativo en el eritrocito. En otro estudio donde se obtuvieron menores porcentajes de hemólisis, el tiempo de exposición de los eritrocitos a la luz ultravioleta fue solo de 10 minutos.⁽⁵⁾

Los estudios de susceptibilidad a la fotohemólisis han sido particularmente utilizados para demostrar el potencial efecto foto irritante de algunas sustancias sobre las membranas eritrocitarias. Estos métodos permiten valorar el potencial efecto fototóxico de algunos compuestos químicos como la clorpromazina, por su capacidad de perturbar la membrana del eritrocito, oxidar la hemoglobina o ambas, bajo la exposición a la luz ultravioleta, confirmando su efecto foto irritante.^(5,8)

Los resultados obtenidos ofrecen evidencias que en el modelo experimental de hiperlipidemia inducida por sacarosa en ratas wistar al cuarto mes del estudio, se ha alcanzado un estado inicial de daño oxidativo, caracterizado por un moderado incremento de las especies reactivas de oxígeno (EROS), que aún resulta insuficiente para provocar alteraciones fisiológicas en la membrana de los eritrocitos. Sin embargo, resultan alentadores los resultados que demuestran que existe un mayor ambiente oxidativo en los animales sometidos a la dieta rica en sacarosa, al observarse un incremento en la fotohemólisis y en los test de susceptibilidad a la hemólisis y a la fotohemólisis, demostrándose el papel hiperlipemizante de la sacarosa y su relación con la generación de mayor estrés oxidativo, posibilitando también el diseño de modelos experimentales que permitan el estudio preclínico de terapias antioxidantes. Igualmente expone los daños en las membranas celulares que se derivan de las dietas diabetogénicas, siendo un gran reto el estudio de estos eventos, por lo que se hace imprescindible seguir utilizando modelos animales que permitan realizar experimentos que serían éticamente inaceptables en humanos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Díaz Arce D. Hiperglicemia y estrés oxidativo en el paciente diabético. Rev Cubana Invest Bioméd [Internet]. 2006 Jul-Sep [citado 4 Abr 2012]; 25(3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002006000300009&lng=es.

2. Munday R, Smith BL, Munday CM. Structure-activity relationships in the haemolytic activity and nephrotoxicity of derivatives of 1,2- and 1,4-naphthoquinone. J Appl Toxicol. 2007; 27(3):262-9. Citado en PubMed; PMID 17265417.

3. Ayala I, Cámara P, Fernández-Pardo J, Flores I, Cascales AI, Gutiérrez Panizo C, et al. Experimental animal models of fatty liver disease and metabolic syndrome.

- An Vet Murcia [Internet]. 2008 [citado 4 Abr 2012];24:5-16. Disponible en:
<http://www.cabdirect.org/abstracts/20093154293.html;jsessionid=8787DEAD540744B038C85535D9FF2909>.
4. Bermúdez Toledo D, Boffill Cárdenas M, Valido Díaz A, Martínez Montalbán CM, Iglesias Rodríguez N. Evaluación fotohemolítica in Vitro de parthenium hysterophorus L. Revista Medicentro [Internet]. 2012; [citado 14 Jun 2012];16(1). Disponible en:
<http://www.medicentro.sld.cu/paginas%20de%20acceso/Sumario/ano%202012/v16n1a12/fotohemolitica61revisado.htm>.
5. González Madariaga Y, Boffill Cárdenas M, Bermúdez Toledo D, Castillo Alfonso O, Martínez Montalbán C M, Martínez Bernal Y. Evaluación fotohemolítica in vitro de *Cissus sicyoides* L. y *Achyranthes aspera* L. Rev Cubana Plant Med [Internet]. 2010 Jul-Sep [citado 04 Abr 2012]; 15(3): 126-132. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962010000300004&lng=es.
6. González Madariaga Y, Boffill Cárdenas M, Bermúdez Toledo D, Castillo Alfonso O, Sánchez Álvarez C. Hemólisis producida por *Solanum melongena*, *Cissus sicyoides*, *Plantago major* y *Achyranthes aspera*. Medicentro Electrónica [Internet]. 2009 [citado 3 Mar 2011];13(1). Disponible en:
<http://medicentro.vcl.sld.cu/paginas%20de%20acceso/Sumario/ano%202009/v13n1a09/hemolisis9.htm>.
7. Gutiérrez Salinas J, Cruz Tovar L, Chima Galán MC, García Ortiz L, Pérez Razo JC. Efecto de la ingestión de fluoruro de sodio en la concentración de malondialdehído y la actividad de enzimas antioxidantes en el eritrocito de rata. Rev Especialidades Médico-Quirúrgicas. [Internet]. 2009; [citado 20 Dic 2010]; 14(2): 71-7. Disponible en:
<http://www.medigraphic.com/pdfs/quirurgicas/rmq-2009/rmq092d.pdf>.
8. González YM, Boffill MC, Bermúdez DT, Sánchez CA, Castillo OA. Evaluación del ensayo de fotohemólisis en el sistema de Clasificación ABO Rh+. Medicentro Electrónica [Internet]. 2007 [citado 20 Dic 2008]; 11(1):[aprox 5 p.]. Disponible en:
<http://medicentro.vcl.sld.cu/paginas%20de%20acceso/Sumario/ano%202007/v11n1a07/evaluacion.htm>.
9. Ambjørn M, Asmussen JW, Lindstam M, Gotfryd K, Jacobsen C, Kiselyov VV, et al. Metallothionein and a peptide modeled after metallothionein, EmtinB, induce Neuronal differentiation and survival through binding to receptors of the Low-density lipoprotein receptor family. J Neurochem. 2008; 104(1):21-37. Citado en PubMed; PMID 17986228.
10. Sander CS, Chang H, Salzman S, Muller CS, Elsner P, Thiele JJ, et al. Photoaging is associated with protein oxidation in human skin in vivo. J Invest Dermatol. 2002;118(4):618-25. Citado en PubMed; PMID 11918707.
11. Albers B, Bray D, Lewis J, Raff M, Robert K, Watson JD. Molecular Biology of the cell. 4ta ed. Barcelona: Ediciones Omega; 1996. p. 509-89.

12. Chihuailaf Vivanco RH, Wittwer Menge FG, Contreras Barriga PA. Variaciones de la fragilidad osmótica eritrocitaria en bovinos a pastoreo sobre praderas con bajo contenido de selenio y suplementados o no con selenio. Rev Cient Maracaibo [Internet]. 2006 [citado 17 Abr 2011]; 16(3):227-31. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0798-22592006000300003&script=sci_arttext&lng=pt.
13. Chihuailaf RH, Contreras PA, Wittwer FG. Patogénesis del estrés oxidativo: consecuencias y evaluación en salud animal. Vet Mex [Internet]. 2002 Jul-Sep. [citado 5 Abr 2011]; 33(3). Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/vetmex/vm-2002/vm023f.pdf>.
14. Neuman MP, Neuman J, Mossot HE, D'Ortencio AD, Rodríguez S, Verona H. Depleción del adenosín trifosfato del hematíe en conejos con dieta aterogénica. Su correlación con el incremento del colesterol plasmático. Rev argent cardiol. 2002; 70(3): 1001-9.
15. Ghoti H, Fibach E, Dana M, Abu Shaban M, Jeadí H, Braester A, et al. Oxidative stress contributes to hemolysis in patients with hereditary spherocytosis and can be ameliorated by fermented papaya preparation. Ann Hematol. 2011; 90(5):509-13. Citado en PubMed; PMID 21063708.
16. Wallinger ML, Rosón M, Ricci C, Linares LM, Reyes Toso CF. Administración de dosis elevadas de vitamina E en ratas adultas con síndrome metabólico experimental: efecto sobre el estrés oxidativo. Diaeta [Internet]. 2011 Jun [citado 11 Abr 2012]; 29(135):27-34. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1852-73372011000200003&lng=es.
17. Bonilla JF, Palomino F. Hemólisis inducida por el ejercicio: relación entre el nivel de actividad de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y el grado de hemólisis. Rev Colombia Médica [Internet]. 2008 [citado 17 Abr 2011]; 39(2):112-7. Disponible en: <http://www.bioline.org.br/abstract?id=rc08025&lang=es>.
18. Forchetti O, Maffrand C, Vissio C, Boaglio C, Cufre G. Hipofosfatemia y fragilidad osmótica eritrocítica en cabras. Redvet [Internet]. 2006 Ene [citado 17 Abr 2011]; 7(1). Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n010106.html#010602>.

Recibido: 14 de Mayo de 2012.

Aprobado: 27 de Junio de 2012.

Alcides González Gil. Universidad de Ciencias Médicas de Matanzas. Facultad de Medicina Juan Guiteras Gener. Carretera Central Km 101. Matanzas, Cuba. Correo electrónico: alcidesgg@ucm.mtz.sld.cu

CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

González Gil A, González Madariaga Y, Martínez Leyva G, Hernández Ugalde F, Suárez González A. Daño oxidativo en un modelo experimental de hiperglicemia e hiperlipidemia inducida por sacarosa en ratas wistar. Rev Méd Electrón [Internet]. 2012 Jul-Ago [citado: fecha de acceso];34(4). Disponible en: <http://www.revmatanzas.sld.cu/revista%20medica/ano%202012/vol4%202012/tema01.htm>