

Concordancia de la medición del sistema antioxidante total en sangre capilar y en sangre venosa

Concordance of measurement of total antioxidant system in capillary blood and venous blood

JUDITH MARGARITA RODRÍGUEZ-VILLALOBOS¹, LIDIA GUILLERMINA DE LEÓN-FIERRO^{1,2}
Y CLAUDIA ESTHER CARRASCO-LEGLEU¹

Recibido: Julio 30, 2015

Aceptado: Agosto 26, 2015

Resumen

La determinación del sistema antioxidante total (SAT) en sangre capilar puede ser una opción confiable, práctica y mínimamente invasiva respecto a su medición en sangre venosa, lo que representa una ventaja en el estudio de este parámetro de reciente interés clínico, nutricional y deportivo, por su relevancia dentro de sistema inmunológico. Con el propósito de establecer la concordancia de la medición del SAT en sangre capilar con respecto a su determinación en sangre venosa, se realizó un estudio correlacional de corte transversal en 12 adultos clínicamente sanos. En condiciones de ayuno de ocho horas, se extrajeron muestras sanguíneas de la vena antecubital de un brazo y de la yema de uno de los dedos de la mano de cada participante en forma simultánea. El SAT proveniente del plasma se analizó por medio del ensayo de la Capacidad Antioxidante en Equivalentes de Trolox (TEAC, por su siglas en inglés), ajustado por la concentración de proteína calculada con la técnica del ácido bicinónico. Se realizó un análisis estadístico con un modelo de regresión lineal y con un esquema de Bland y Altman en los que se encontró un alto grado de concordancia entre ambos métodos de extracción sanguínea ($r=0.91$, $a=0$, $b=0.967$). Se concluyó que la determinación de SAT en plasma capilar es una alternativa viable con un buen grado de asociación y concordancia en comparación con su determinación en plasma venoso.

Palabras clave: extracción venosa, extracción capilar, concordancia, asociación, sistema antioxidante total.

Abstract

Determination of the total antioxidant system (SAT by its abbreviations in Spanish) in capillary blood can be a reliable, practical and minimally invasive option regarding its measurement in venous blood, and represents an advantage in the study of this parameter by its recent clinical, nutritional and sporting interest due its relevance in the immune system. In order to establish the correlation of SAT measurement of capillary blood with respect to its determination in venous blood, a correlational cross-sectional study in 12 clinically healthy adults was conducted. Under eight-hour fasting conditions, blood samples from the antecubital vein and one of the fingertips of each participant were simultaneously extracted. The SAT from plasma was analyzed by testing the antioxidant capacity equivalents of Trolox (TEAC as its acronym in English), adjusted for protein concentration calculated using bicinchoninic acid technique. A statistical analysis with a linear regression model with a Bland and Altman scheme in which a high degree of concordance between both blood collection methods was found ($r=0.91$, $a=0$, $b=0.967$). It was concluded that SAT determination in capillary plasma is a viable alternative with a good degree of association and consistency, compared with venous plasma determination.

Keywords: venous sampling, capillary sampling, concordance, association, total antioxidant system.

¹ Universidad Autónoma de Chihuahua. Facultad de Ciencias de la Cultura Física, Ciudad Universitaria C. P. 31009. Chihuahua, Chih., México. Tel. (614) 413-0433.

² Dirección electrónica del autor de correspondencia: gdeleon@uach.mx.

Introducción

La efectividad y diversificación en los métodos de evaluación bioquímica ha sido un factor clave en el desarrollo de los procedimientos científicos. Diversos analitos han sido validados en diferentes tejidos, fluidos corporales y sitios de extracción, entre los que destacan el lactato sanguíneo (Contenti, Corraze, Lemoël & Levraut, 2014), la hemoglobina (Patel, Wesley, Leitman & Bryant, 2013), la glucosa (Carstensen, Lindström, Sundvall, Borch-Johnsen & Tuomilehto, 2008; Ignell & Berntorp, 2011) y la capacidad del sistema antioxidante total (SAT) (Youssef *et al.*, 2008) que ha despertado cada vez mayor interés clínico, nutricional y deportivo debido a que es una de las principales estrategias de defensa ante los ambientes biológicamente hostiles.

Si bien, aún no es posible conocer a fondo y controlar la complejidad funcional del SAT, las investigaciones han sido orientadas a comprender, estimular y fortalecer la respuesta antioxidante del sistema inmunológico, con el propósito de generar opciones de protección fisiológica contra aquellos daños derivados de la sobreproducción de oxidantes (Niki, 2010); mantener el equilibrio bioquímico es una prioridad sistémica, ya que si fallase uno de los mecanismos protectores contra los agentes oxidantes, la acción de estos se volvería incontrolable, dañando moléculas, células y órganos, causando la muerte del organismo (Ľuraèková, 2014).

Aunque existen varios ensayos para la determinación del SAT (Kolomvotsou *et al.*, 2013), cualquiera de estos resulta ser una medida parcial, ya que ninguno es sensible a la totalidad del complejo de moléculas antioxidantes (Golbidi, Badran & Laher, 2011). Tales procedimientos han sido desarrollados principalmente en sangre venosa y no en sangre capilar, lo que limita su uso práctico y en investigación.

Generar una alternativa metodológica que disminuya el grado de invasividad, diversifique y mejore la practicidad de la extracción sanguínea, será de gran utilidad para la determinación del SAT, ya que no solo ayudará a optimizar los métodos de evaluación en dicho proceso bioquímico (Rautiainen, Serafini, Morgenstern, Prior & Wolk, 2008; Bartosz, 2010;

Fraga, Oteiza & Galleano, 2014), sino además favorecerá el monitoreo continuo cuando así se requiera y aumentará la variedad en el diseño metodológico de utilidad científica.

El objetivo del presente estudio fue establecer la concordancia de la medición del sistema antioxidante total (SAT) en sangre capilar con respecto a su determinación en sangre venosa.

Materiales y métodos

Sujetos

Participaron 12 personas adultas con edades entre 23 y 50 años. Se realizó un muestreo por cuotas en una institución educativa, tomando como criterios de exclusión estar enfermos al momento del estudio o tomando algún tipo de medicamento y/o suplemento. Los participantes aceptaron participar voluntariamente y firmaron una carta de consentimiento informado con la descripción clara de los procedimientos y los riesgos del estudio redactada con base en la normativa vigente.

Diseño

Es un estudio cuantitativo, no experimental, correlacional y de corte transversal. A cada participante se le extrajo una muestra de sangre venosa y una capilar, en ayuno no menor de ocho horas. La variable de observación fue el SAT obtenido por medio del ensayo de TEAC, ajustado por la concentración de proteína calculada con la técnica del ácido bicinónico.

Instrumentos, técnicas y procedimientos

La primera muestra fue de 4 ml extraída al vacío de la vena antecubital; se utilizaron agujas y tubos BD Vacutainer k2 EDTA 7.2 mg. La muestra capilar fue extraída de la yema de los dedos por cuadruplicado (microtubos heparinizados de 75 µl marca Lauka); para la punción se utilizaron portalancetas (OEM service) y lancetas esterilizadas de acero inoxidable; la sangre se centrifugó 10 minutos a temperatura ambiente (SOLBAT modelo c-300 y Eppendorf modelo 5415 C, respectivamente). El plasma fue almacenado en tubos eppendorf a una temperatura de -20 °C hasta su posterior análisis.

En cada muestra se determinó por duplicado la concentración de proteína utilizando la técnica del ácido bicinonínico (Thermo Scientific). Brevemente, se preparó una dilución de la muestra 1:500 con Tris-HCl 10 mM (J.T. Baker); se colocaron 10 ml de la dilución por pozo en una placa de Elisa; se añadieron 200 µl de una mezcla de 12.5 ml de ácido bicinonínico con 0.025 ml de sulfato de cobre. La placa se colocó durante cinco minutos a 85 °C y se dejó enfriar 30 min a temperatura ambiente. El valor de la proteína se obtuvo a partir de una curva realizada con solución estándar de albúmina, la lectura se identificó a una longitud de onda de 550 nm (espectrofotómetro BioTek ELx800).

La determinación del SAT se realizó siguiendo los lineamientos de la casa comercial Biovision (catálogo K274-100). Se mezclaron 10 ml de plasma (dilución 1:50) con 50 µl de solución de trabajo y se dejó actuar a temperatura ambiente por una hora y media. Al final se adicionaron 100 µl de agua destilada para proceder a la lectura en el espectrofotómetro a 550 nm. La curva de referencia para SAT se realizó con concentraciones conocidas de Trolox como antioxidante y se expresó en nmol/ml/mg de proteína.

Se utilizó material desechable y estéril para todos los procesos y el manejo de los desechos biológicos infecto-contagiosos se realizó de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana vigente.

Análisis Estadístico

Cada grupo de muestras sanguíneas se analizó descriptivamente con media, desviación estándar, error estándar e intervalo de confianza al 95%. Se determinó la normalidad en cada conjunto de datos con la prueba de Shapiro-Wilk. Para evaluar la concordancia se calcularon media y desviación estándar de las diferencias, límites a 1.96 desviaciones estándar alrededor de la media de las diferencias y se estableció el intervalo de concordancia en los valores de SAT entre plasma venoso y capilar a través de un gráfico de Bland y Altman (Bland & Altman, 2003). Finalmente, se determinó la correlación y se realizó un modelo de regresión lineal entre ambos tipos de muestra, utilizando como variable dependiente a la sangre venosa y como variable predictora a la sangre capilar. El nivel de significancia para todas las relaciones fue de 0.05.

Resultados

La media y desviación estándar de SAT en el conjunto de muestras de plasma venosa fueron 185.03 ± 24.57 nmol/µl/µg, mientras que en plasma capilar fueron 193.65 ± 21.33 nmol/µl/µg, con un error estándar de la media de 7.09 y 6.15 nmol/µl/µg respectivamente. El límite inferior del intervalo de confianza al 95% se encontró en 169.41 nmol/µl/µg y el superior en 200.65 nmol/µl/µg en el caso del plasma venoso; en el plasma capilar el límite inferior se ubicó en 180.10 nmol/µl/µg y el superior en 207.21 nmol/µl/µg (Cuadro 1).

Cuadro 1. Valores descriptivos de SAT en plasma venoso y capilar.

Muestra	N	Media $\pm$ DS (nmol/µl/µg)	EEM (nmol/µl/µg)	CV (%) Media $\pm$ D	IC 95% (nmol/µl/µg)
Venosa	12	185.03 ± 24.57	7.09	4.33 $\pm$ 2.50	169.41 - 200.65
Capilar	12	193.65 ± 21.33	6.15		180.10 - 207.21

DS = desviación estándar; EEM = error estándar de la media; CV = coeficiente de variación entre los valores de capilar y venosa; IC = intervalo de confianza para los valores de la media.

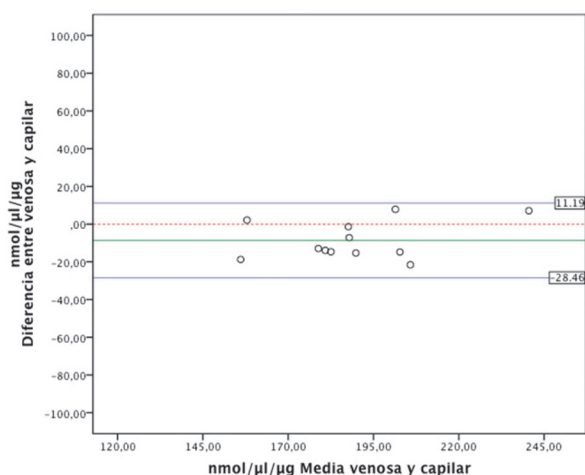
Se observó la concordancia a través de una gráfica de Bland y Altman, estableciendo los límites a ± 1.96 desviaciones estándar de la media de las diferencias. Se encontró una media de las diferencias de -8.62 ± 10.11 nmol/ μ g de SAT entre las muestras provenientes de plasma venoso y capilar con un intervalo de confianza entre -15.04 y -2.19. El límite superior fue de 11.19 nmol/ μ g y el inferior en -28.46 nmol/ μ g. El intervalo de concordancia obtenido fue 39.65 nmol/ μ g. Gráficamente no se observan valores fuera de los límites del intervalo de concordancia (Cuadro 2 y Figura 1).

Cuadro 2. Análisis de las diferencias en los valores de SAT entre plasma venoso y capilar.

Muestra	N	Media diferencias (IC 95%)	DS	Límite concordancia		Intervalo de concordancia
				Superior	Inferior	
Venosa-capilar	20	-8.62 (-15.04, -2.19)	10.11	11.6	-28.84	39.65

IC = intervalo de confianza; DS = desviación estándar de las diferencias entre plasma venoso y capilar.

Figura 1. Gráfica de Bland and Altman para observar concordancia entre SAT de sangre venosa y sangre capilar. La línea verde indica la media de las diferencias entre SAT capilar y venoso; las líneas azules son los límites de concordancia a 1.96 desviaciones estándar de la media de las diferencias.



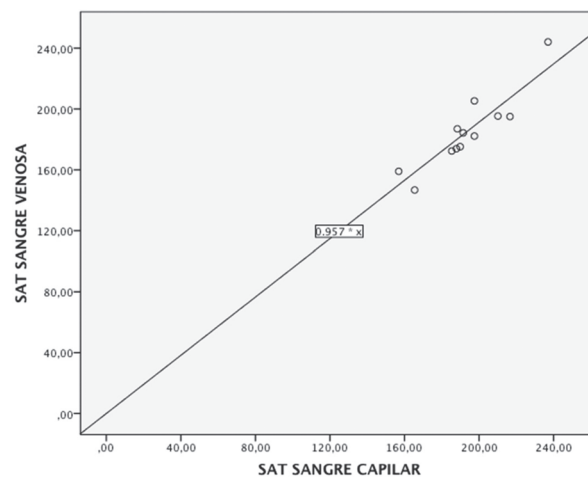
La correlación de Pearson encontrada fue significativa y directa ($r=0.91$, $P<0.001$). Se calcularon los coeficientes de regresión lineal simple con la muestra venosa como variable dependiente y la muestra capilar como variable

predictora. El valor de la constante o intercepto se ajustó a cero debido a que resultó no significativamente distinta de ese valor. El coeficiente B después del ajuste en la constante, obtuvo un valor de 0.957 nmol/ μ l/ μ g por cada nmol/ μ l/ μ g de plasma capilar. El error estándar de estimación fue de 10.24 nmol/ μ l/ μ g al predecir los valores de SAT en plasma venoso a través de los valores de SAT en plasma capilar (Cuadro 3 y Figura 2). La ecuación de predicción es significativa y se representa de la siguiente manera: $Y'=0.957 X$.

Cuadro 3. Análisis de regresión lineal para valores de SAT entre plasma venoso (dependiente) y capilar (independiente).

Muestra	CC	EEE	Sig.	Intercepto	Pendiente
Venosa/capilar	0.91	10.54	0.001	0 ^(*)	0.957

Figura 2. Regresión lineal simple entre SAT de plasma venoso (dependiente) y plasma capilar (predictor).



Discusión

Los valores de media de SAT extraídos de plasma capilar y venoso, difieren entre sí menos del 5%, con valores de error estándar muy semejantes. Se muestra una amplitud considerable en el intervalo de confianza derivada posiblemente de una gran dispersión entre los sujetos, no obstante, la desviación estándar en ambos métodos es similar, lo que indica que la variación observada es equivalente entre los dos tipos de muestra.

Como era lo esperado, hubo un aceptable grado de concordancia entre los valores de SAT venoso y capilar; a través del gráfico de Bland y Altman se puede observar que no aparecen valores fuera de los límites de concordancia establecidos a 1.96 desviaciones estándar alrededor de la media de las diferencias, sin embargo, el valor de la media está por debajo de cero, es decir, al restar los valores venosos de los capilares, un resultado negativo indica valores menores en plasma venoso con relación a los valores determinados en plasma capilar incluso en el extremo superior del intervalo de confianza para la media de las diferencias. Este evento fue observado de manera similar por Schweigert (Schweigert, Klingner, Hurtienne & Zunft, 2003) al comparar la concentración de vitaminas en sangre, encontró que los valores eran más altos en plasma capilar y sugirió que pudo deberse a la diferencia en la presión hidrostática y la presión osmótica coloidal; así mismo, ha ocurrido con otros analitos como colesterol (Sblendorio, Palmieri & Riccionii, 2008), triglicéridos y glucosa (Ignell & Berntorp, 2011) en los que los métodos son equiparables pero con sobreestimación en el caso de la muestra capilar. Por el contrario, Youssef *et al.*, que en 2008 compararon el SAT en plasma, reportaron valores ligeramente mayores (3.1%) en la muestra venosa con respecto a la capilar (Youssef *et al.*, 2008).

El intervalo de concordancia observado en la gráfica de Bland y Altman, fue del 21% alrededor de la media, mayor de lo esperado; lo que pudiera atribuirse a la variación propia de los valores entre sujetos en ambas muestras.

Por otra parte, la correlación de Pearson se encontró en un valor alto y significativo; aunque la correlación por sí misma es insuficiente, se refuerza con los datos de concordancia ya mencionados y por el modelo de regresión lineal que mostró una pendiente con un valor de 0.967. En este sentido, es consistente considerar que la muestra de plasma capilar genera valores más altos que la

de plasma venoso, ya que la ecuación reporta un valor en la pendiente ligeramente por debajo de la unidad, una vez que se ha ajustado el valor del intercepto que resultó no diferente de cero. Este ajuste favoreció la ecuación predictora, ya que el error estándar de estimación igualmente se modificó a un valor de 10.54 nmol/ μ l/ μ g que es menos del 6% del valor de la media encontrada en la variable a predecir. De manera similar, Youssef *et al.* (2008) reportaron un modelo de regresión lineal entre capacidad antioxidante de plasma capilar y venoso en triatletas; al contrario del presente estudio, obtuvieron un intercepto significativo con una pendiente menor; aunque no se reportó el error estándar de estimación. Los autores manifestaron que los métodos son comparables y que la extracción capilar facilita el seguimiento regular en deportistas, además de ser más sencillo durante el ejercicio debido a la vasodilatación.

Conclusiones

Aún cuando el tamaño de muestra es pequeño y se observa una considerable dispersión de valores entre los sujetos, hay suficiente información para identificar un buen grado de asociación y concordancia entre ambos métodos de extracción, pero con valores sobreestimados en el caso de las muestras de plasma capilar, dentro de un aceptable error de estimación. Con lo anterior, se concluye que la determinación de SAT en plasma capilar es una alternativa válida comparada con su determinación en plasma venoso.

Agradecimientos

Este proyecto fue parcialmente financiado por la Universidad Autónoma de Chihuahua a través de la Facultad de Ciencias de la Cultura Física y por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología dentro del Programa de Fortalecimiento Académico de Posgrado de Alta Calidad.

Literatura Citada

- Bartosz, G. 2010. Non-enzymatic antioxidant capacity assays: limitations of use in biomedicine. *Free radical research*, 44(7): 711-720.
- Bland, J., & Altman, D. G. 2003. Applying the right statistics: analyses of measurement studies. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, 22: 85-93.
- Carstensen, B., Lindström, J., Sundvall, J., Borch-Johnsen, K., & Tuomilehto, J. 2008. Measurement of blood glucose: comparison between different types of specimens. *Annals of clinical biochemistry*, 45(2): 140-148.
- Contenti, J., Corraze, H., Lemoël, F., & Levraut, J. 2014. Effectiveness of arterial, venous, and capillary blood lactate as a sepsis triage tool in ED patients. *The American journal of emergency medicine*.
- Ľuračková, Z. 2014. Free Radicals and Antioxidants for Non-Experts. In I. Laher (Ed.), *Systems Biology of Free Radicals and Antioxidants*. 1: 3-38. Berlin Heidelberg: Springer Reference.
- Fraga, C. G., Oteiza, P. I., & Galleano, M. 2014. In vitro measurements and interpretation of total antioxidant capacity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1840(2), 931-934. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.06.030>.
- Golbidi, S., Badran, M., & Laher, I. 2011. Antioxidant and anti-inflammatory effects of exercise in diabetic patients. *Experimental diabetes research*, 2012.
- Ignell, C., & Berntorp, K. 2011. Evaluation of the relationship between capillary and venous plasma glucose concentrations obtained by the HemoCue Glucose 201+ system during an oral glucose tolerance test. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation*, 71(8): 670-675.
- Kolomvotsou, A. I., Rallidis, L. S., Mountzouris, K. C., Lekakis, J., Koutelidakis, A., Efstathiou, S., . . . Zampelas, A. 2013. Adherence to Mediterranean diet and close dietetic supervision increase total dietary antioxidant intake and plasma antioxidant capacity in subjects with abdominal obesity. *European journal of nutrition*, 52(1): 37-48.
- Niki, E. 2010. Assessment of Antioxidant Capacity in vitro and in vivo. *Free Radical Biology and Medicine*, 49(4), 503-515. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.04.016>
- Patel, A. J., Wesley, R., Leitman, S. F., & Bryant, B. J. 2013. Capillary versus venous haemoglobin determination in the assessment of healthy blood donors. *Vox sanguinis*, 104(4): 317-323.
- Rautiainen, S., Serafini, M., Morgenstern, R., Prior, R. L., & Wolk, A. 2008. The validity and reproducibility of food-frequency questionnaire-based total antioxidant capacity estimates in Swedish women. *The American journal of clinical nutrition*, 87(5): 1247-1253.
- Sblendorio, V., Palmieri, B. P., & Riccioni, G. 2008. Blood cholesterol concentration measured by CR3000: fingerstick versus venous sampling. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 21(3): 729-733.
- Schweigert, F. J., Klingner, J., Hurtienne, A., & Zunft, H. J. 2003. Vitamin A, carotenoid and vitamin E plasma concentrations in children from Laos in relation to sex and growth failure. *Nutrition Journal*, 2.
- Youssef, H., Groussard, C., Machefer, G., Minella, O., Couillard, A., Knight, J., & Gratas-Delamarche, A. 2008. Comparison of total antioxidant capacity of salivary, capillary and venous samplings: interest of the salivary total antioxidant capacity on triathletes during training season. *The Journal of sports medicine and physical fitness*, 48(4): 522-529. 

Este artículo es citado así:

Rodríguez-Villalobos, J.M., L.G. De León-Fierro y C.E. Carrasco-Legleu. 2015. Concordancia de la medición del sistema antioxidante total en sangre capilar y en sangre venosa. *TECNOCENCIA Chihuahua* 9(1): 30-35.

Resumen curricular del autor y coautores

JUDITH MARGARITA RODRÍGUEZ VILLOBO. Terminó su licenciatura en 2003, año en que le fue otorgado el título de Licenciada en Educación Física por la Facultad de Educación Física y Ciencias del Deporte de la Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH). Realizó su posgrado en la misma institución, donde obtuvo el grado de Maestra en Ciencias del Deporte opción biología en el año 2006. Labora en la Universidad Autónoma de Chihuahua desde el año 2006, actualmente como docente de tiempo completo. Su línea de investigación es fisiología y bioquímica del ejercicio. Ha dirigido 3 tesis de nivel licenciatura y 5 de nivel maestría. Es autora de 3 artículos científicos en revistas indexadas y arbitradas, coautora en 10. Participación como coautor de 5 artículos publicados en memorias en extenso. Responsable del cuerpo académico UACH-121 con el grado de "en consolidación". Responsable técnico de un proyecto de Red con cuerpos académicos nacionales y extranjeros, financiado por PRODEP durante 3 años.

LIDIA GUILLERMINA DE LEÓN FIERRO. En 1983 le fue otorgado el título de Médico Cirujano y Partero por la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH). Realizó su posgrado en la Facultad de Educación Física y Ciencias del Deporte de la misma Universidad donde obtuvo su grado de Maestra en Ciencias del Deporte, Opción Biología en 1995. El grado de Doctora en Ciencias lo obtuvo en 2010 por la Universidad de Granada, España, en el área de Actividad Física y Salud. Desde 1992 labora en la Facultad de Ciencias de la Cultura Física de la UACH con la categoría de Académico titular C; institución donde realiza investigación en las áreas de antropometría y fisiología de la actividad física, específicamente el estudio del metabolismo energético de reposo y del ejercicio, perfil morfológico-antropométrico y actividad física en niños y adultos con enfermedades crónicas no transmisibles. Ha sido miembro del Sistema Nacional de Investigadores desde 2012 (Nivel 1 2012-2014; 2015-2018). Ha dirigido 3 tesis de licenciatura, 26 de maestría y 3 de doctorado. Es autora de diversos artículos en revistas indexadas y arbitradas, en memorias en extenso, carteles y presentaciones orales en congresos nacionales e internacionales y conferencias por invitación. Es Antropometrista Criterio Internacional Nivel 4 de ISAK y Coordinadora de cursos de Certificación Internacional en Antropometría ISAK; Evaluadora de proyectos de CONACYT (RCEA), Coordinadora académica para la Red Euroamericana de Actividad Física, Educación y Salud (REAFES) y responsable del Cuerpo Académico UACH- 104 "Estilos de Vida Saludable y Actividad Física" que se encuentra Consolidado.

CLAUDIA ESTHER CARRASCO LEGLEU. Realizó sus estudios de licenciatura en la Facultad de Ciencias Químicas (FCQ) de la Universidad de Sonora (UNISON), obteniendo en 1996 el título de Químico Biólogo con especialidad en Análisis Clínicos. En el año 1998 le fue otorgado el grado de Maestro en Ciencias, con especialidad en Biología Celular, y en 2003 su Doctorado en Ciencias, con la misma especialidad, ambos grados conferidos por el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV-IPN) con sede en la ciudad de México, D.F. Desde el año 2007 trabaja como maestra de Tiempo Completo en la Facultad de Ciencias de la Cultura Física de la UACH, institución donde realiza investigación enfocada en el área de la actividad física, estrés oxidativo y salud, participando en el cuerpo académico CA-104 "Estilos de vida saludable y actividad física" que se encuentra Consolidado.