



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
"PROFA. OMAIRA FIGUEROA"
SEDE ARAGUA**



**ACTIVIDAD DE LA ENZIMA ARGINASA EN SUERO, COMO MARCADOR
DE RIESGO PARA DESARROLLAR SÍNDROME CARDIOMETABÓLICO
EN TRABAJADORES DE LA ESCUELA DE BIOANÁLISIS, SEDE
ARAGUA**

**Trabajo de Investigación
presentado como requisito para
aprobar la asignatura:**

**Br. Angely González
Br. José Linares**

La Morita, Noviembre 2023



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
"PROFA. OMAIRA FIGUEROA H."
SEDE ARAGUA**



**ACTIVIDAD DE LA ENZIMA ARGINASA EN SUERO, COMO MARCADOR
DE RIESGO PARA DESARROLLAR SÍNDROME CARDIOMETABÓLICO
EN TRABAJADORES DE LA ESCUELA DE BIOANÁLISIS, SEDE
ARAGUA**

**Trabajo de Investigación presentado
como requisito para aprobar la
asignatura:**

Br. Angely González

Br. José Linares

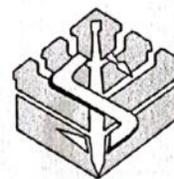
Tutora Científica: Profa. Gregoria González
Mayo

Tutora Metodológica: Profa. Luisa Figueroa

La Morita, Noviembre 2023



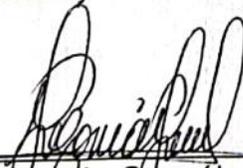
UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANALISIS SEDE ARAGUA
PROFESORA "OMAIRA FIGUEROA"
DEPARTAMENTO CLÍNICO INTEGRAL
ASIGNATURA: TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

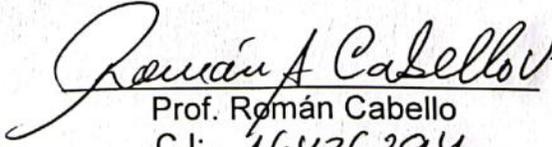


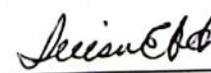
VEREDICTO

Nosotros los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del Trabajo de Investigación titulado: "Actividad de la enzima arginasa en suero, como marcador de riesgo para desarrollar síndrome cardiometabólico en trabajadores de la Escuela de Bioanálisis, Sede Aragua" presentado por los bachilleres Angely González y José Linares con el fin de aprobar la Asignatura Trabajo de Investigación; después de la exposición y discusión pública del citado trabajo, consideramos que el mismo reúne los requisitos para **APROBARLO** como tal. En fe de lo cual se levanta la presente acta, el día lunes trece del mes de noviembre del año dos mil veintitrés, dejando constancia de que, conforme a lo dispuesto por la normativa vigente, actuó como Coordinadora del jurado, la Tutora Metodológica Profesora Luisa Figueroa.

Por otra parte, se hace constar para efectos académicos de convalidación, que el presente trabajo representa el equivalente al Trabajo de Grado reconocido en otras instituciones y el contenido del veredicto es auténtico.


Prof. Gregoria González
C.I.: 6768301
Tutora Científica


Prof. Román Cabello
C.I.: 16436294
Jurado Evaluador


Prof. Luisa Figueroa
C.I.: 13492802
Coordinadora del Jurado





Universidad de Carabobo
 Facultad Ciencias de la Salud
 Escuela de Bioanálisis "Prof(a). Omaira Figueroa" Sede Aragua
 Departamento Clínico Integral
 Asignatura Trabajo de Investigación

XX JORNADAS DE INVESTIGACIÓN EN PREGRADO DE LA ESCUELA DE

BIOANÁLISIS

"Profesora Margarita Navas"

Otorgan:

**MENCIÓN HONORÍFICA EN SU
 SEGUNDA CLASE**

AL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN TITULADO:

"Actividad de la enzima arginasa en suero, como marcador de riesgo para desarrollar enfermedad cardiometabólica en trabajadores de la Escuela de Bioanálisis, Sede Aragua"

Realizado por: **Angely González, José Linares**
 Tutora científica: **Gregoria González**



DMTA - FCSSA

Prof. José Corrado

Decano de la Facultad de
 Ciencias de la Salud



Prof. Dayana Requena S.

Directora de la Escuela de
 Bioanálisis Sede Aragua



Prof. Elizabeth Ferrer

Directora de Investigación y Producción
 Intelectual Sede Aragua



Prof. María F. Barba

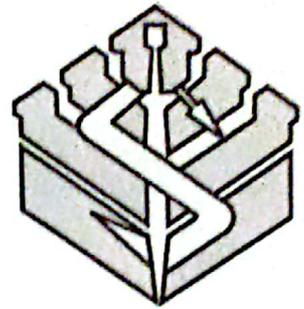
Coordinadora asignatura
 Trabajo de Investigación



Maracay, 13 al 15 de noviembre de 2023



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
"PROFA. OMAIRA FIGUEROA"
DEPARTAMENTO CLÍNICO INTEGRAL
TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



La Morita, Noviembre 2023.

CONSTANCIA DE REVISIÓN Y ACEPTACIÓN DEL TUTOR CIENTÍFICO

En mi carácter de tutor científico de trabajo de investigación titulado: **ACTIVIDAD DE LA ENZIMA ARGINASA EN SUERO, COMO MARCADOR DE RIESGO PARA DESARROLLAR SÍNDROME CARDIOMETABÓLICO EN TRABAJADORES DE LA ESCUELA DE BIOANÁLISIS, SEDE ARAGUA**; presentado por los bachilleres: Angely González, C.I.: 25.073.614 y José Linares, C.I.: 23.784.796, Trabajo de Investigación del 5to año de la Escuela de Bioanálisis de la Universidad de Carabobo, sede Aragua. Considero que el mismo reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación pública y evaluación por parte del jurado designado.

Atentamente;

Nombre y Apellido: Guadalupe González Mayo
C.I.: 6768301
Firma: [Firma manuscrita]

DEDICATORIA

A mi madre principalmente, Por ser mi inspiración, apoyo incondicional y ser el pilar fundamental de mi educación, valores, cuidado y alimentación por todos estos años. Por siempre estar para mí y siempre ayudarme cuando las cosas se hacían difíciles, por todo eso y más, siempre te amare con toda mi vida. Gracias por estar para mí siempre que te he necesitado. Este título es más tuyo que mío

A mi padre por siempre darme una palabra de aliento y decirme que no debo desistir de mis objetivos y que si caigo solo debo volverme a levantar.

A mi abuela María, porque siempre estará conmigo en todo momento cuidándome y amándome como siempre lo hizo, esto va por ti abuela.

A mi abuela Servia, por aconsejarme siempre que debía hacer cuando yo no tenía la solución a los problemas porque a pesar de la distancia siempre ha estado para mí. Te amo abuela gracias por tus rezos.

A mi abuelo Wilfredo por escucharme y darme los mejores consejos que él ha aprendido a lo largo de su vida y a pesar que pensamos de manera diferente siempre estaré orgulloso de él, Te amo abuelo

A mi tía Alcira, mi segunda madre, porque fuiste la que me enseñó y me cuidó desde el inicio de mi vida.

A mi compañera de tesis, por enseñarme que mi paciencia no tiene límites, y que a pesar de todo lo malo aun pudimos trabajar en equipo y culminar este proyecto de 2 años. Por enseñarme que no hay barrera y obstáculo que me puedan detener.

A todos los que de alguna manera estuvieron presentes en este trayecto de 8 largos años y tuvieron Fe en mí. GRACIAS

Jose Gregorio de Jesús Linares Valecillos

DEDICATORIA

Principalmente se lo dedico a Dios, quién en este tiempo me ha ayudado a levantarme día a día en cada tropiezo, a lo largo de estos años, que me regalo la sabiduría, paciencia y entendimiento, durante este recorrido, ha puesto a personas específicas durante este tiempo, que me han ayudado a que el camino sea mucho más ligero.

De manera especial a mi abuelo Jesse James, el ángel que me cuida desde el cielo, fue mi fuerza y motor día a día para luchar por este sueño que hoy se hace realidad, un beso hasta el cielo.

A mis padres, quienes han estado para mí, me han apoyado, y me han levantado día y tras día durante este recorrido donde he tenido días buenos, y no tan buenos, brindándome las palabras de aliento necesarias cuando muchas veces quería rendirme, cuando más las necesitaba, quienes han luchado junto a mí, para materializar este sueño. A mis hermanos que han sido también el motor para superarme y brindarles el mejor ejemplo, son mi vida entera, espero siempre poder darles el mejor ejemplo, gracias por muchas veces tratar de entenderme y ayudarme cuando necesitaba una mano.

A mis abuelos: Mercedes, Fanny y Salvador, por sus bendiciones y oraciones, sin ellas no hubiese podido mantenerme, gracias por cuidar de mí y enseñarme lo valioso que es la oración.

A toda mi familia, que siempre me han animado, me han apoyado y han estado para mí, en cada paso que he dado durante mis estudios, quienes me han enseñado con su ejemplo, que la perseverancia es la clave del éxito.

A mi prometido Douglas, por apoyarme, impulsarme a ser la mejor versión de mi misma, por tenerme paciencia, y por haber llegado en el momento correcto, cuando Dios lo quiso, llenarme de motivación y mucha felicidad.

Angely Saray González Vásquez

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos en primer lugar a Dios, por darnos la oportunidad de realizar esta tesis.

A nuestra tutora la licenciada y profesora querida Gregoria Mayo González, por la dedicación y apoyo que nos han brindado en este trabajo, por la paciencia y por los conocimientos aportados no solamente a la tesis sino también a lo largo de los años en nuestra carrera.

Se agradece al laboratorio Mayo-azur por ser nuestro pilar y base para realizar todo este proyecto.

Nuestra gratitud al licenciado Davis Rodríguez y al laboratorio Bioanálisis del centro por abrirnos las puertas y facilitarnos parte del trabajo experimental de nuestra tesis.

A nuestros padres por su apoyo económico, moral, espiritual y confianza depositada en nosotros. Nuestro profundo agradecimiento a la Universidad de Carabobo, por acogernos y hacer posible nuestra anhelada meta de titularnos y estar al servicio de la comunidad de esta hermosa carrera de bioanálisis.

Y, por último, pero no menos importante agradecer a todas aquellas personas que estuvieron presente y relacionado de alguna manera en este proyecto. Gracias.

INDICE GENERAL

LISTA DE TABLAS	8
LISTA DE FIGURAS	9
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	11
Objetivo General:	11
Objetivos específicos:.....	11
MATERIALES Y METODOS	12
Tipo de investigación.....	12
Población	12
Muestra	12
Técnicas e instrumentos de recolección de datos	13
Procedimiento experimental	14
Análisis e interpretación de datos.....	26
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
CONCLUSIONES	49
RECOMENDACIONES.....	50
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	51
ANEXOS.....	61
ANEXO A	61
ANEXO B	64

LISTA DE TABLAS

N°	PP
1. Parámetros antropométricos y bioquímicos en trabajadores con y sin síndrome cardiometabólico.....	30
2. Correlación de la actividad de la enzima ARG con parámetros antropométricos de los trabajadores con SCM de la escuela de bioanálisis, sede aragua de la universidad de carabobo.....	43
3. Correlación de la actividad de la enzima arg con parámetro bioquímicos de los trabajadores con scm de la escuela de bioanálisis, sede aragua de la universidad de carabobo.....	45
4. Actividad de la enzima arg como marcador de riesgo para sufrir enfermedades cardiovasculares en trabajadores con scm de la escuela de bioanálisis, sede aragua, universidad de carabobo..	47

LISTA DE FIGURAS

N°		PP
1.	Identificación de trabajadores con síndrome cardiometabólico (TCSCM) y trabajadores sin síndrome cardiometabólico (TSSCM).....	29
2.	Identificación de trabajadores con scm, distribuidos según sexo.	29
3.	Actividad enzimática de arginasa..	35
4.	Relación de la velocidad inicial de reacción de ARG con la concentración del sustrato L-arginina.	36
5.	Cinética de reacción de la enzima ARG, en presencia y ausencia 0,5m de L- arginina.	37
6.	Relación velocidad inicial, tiempo y volumen muestra.....	38
7.	Velocidad inicial y actividad de la enzima ARG	41



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
“PROFA. OMAIRA FIGUEROA”
SEDE ARAGUA**



ACTIVIDAD DE LA ENZIMA ARGINASA EN SUERO, COMO MARCADOR DE RIESGO PARA DESARROLLAR SÍNDROME CARDIOMETABÓLICO EN TRABAJADORES DE LA ESCUELA DE BIOANÁLISIS, SEDE ARAGUA.

**Bachilleres: Angely González
José Linares**

Tutora Científica:

Profa.: Gregoria González Mayo.

Tutora Metodológica:

Profa.: Luisa Figueroa

La Morita, 2023.

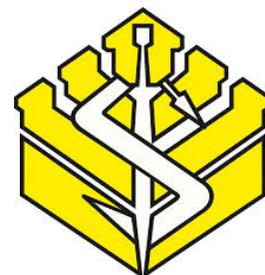
RESUMEN

La actividad de la enzima arginasa esta aumentada en pacientes con enfermedades cardiometabólicas; sin embargo, su actividad en trabajadores no ha sido estudiada. Es por ello que en esta investigación se evaluó la actividad de la enzima arginasa en suero como marcador de riesgo para desarrollar síndrome cardiometabólico en 65 trabajadores clasificados según los criterios de la NCEP-ATP III, en trabajadores con SCM conformado por 24(36,9%) trabajadores y 41(63,1%) trabajadores sin SCM, de ambos sexos, con promedio de edad 53 ± 13 años (Grupo control) de la escuela de Bioanálisis de la Universidad de Carabobo, sede Aragua. La actividad de la enzima ARG fue determinada en suero siguiendo una cinética de reaccion por un método espectrofotométrico a 580nm. Encontrándose que la actividad absoluta de ARG en trabajadores con SCM fue 15,9 veces mayor que la actividad absoluta del grupo control [$34,94 \pm 1,099$ (μM de urea/min)] [$2,20 \pm 0,607$ (μM de urea/min)] respectivamente. La actividad de la enzima arginasa se correlaciono con el IMC, ICC, PC, TA y los parámetros bioquímicos glicemia, colesterol, triglicéridos y una correlación inversa con el HDL-c. Los trabajadores con y sin SCM con una actividad de ARG ≥ 10 μM de urea/min) y con SCM tienen un riesgo de 2,46 y 0,08 veces mayor, respectivamente, a desarrollar enfermedades cardiometabólicas en comparación con los que tienen una actividad <10 μM de urea/min). Estos resultados sugieren que los trabajadores que tienen un aumento de la actividad de la enzima ARG y SCM poseen un mayor riesgo de desarrollar enfermedades cardiometabólicas. Por lo que la enzima ARG se puede utilizar como un biomarcador precoz para la detección de enfermedades cardiometabólicas.

Palabra clave: arginasa, síndrome cardiometabólico, urea.



UNIVERSITY OF CARABOBO
FACULTY OF HEALTH SCIENCES
BIOANALYSIS SCHOOL
ARAGUA CAMPUS



SERUM ARGINASE ENZYME ACTIVITY AS A RISK MARKER FOR THE DEVELOPMENT OF CARDIOMETABOLIC SYNDROME IN WORKERS OF THE BIOANALYSIS SCHOOL, ARAGUA HEADQUARTERS.

ABSTRACT

Arginase enzyme activity is increased in patients with cardiometabolic diseases; however, its activity in workers has not been studied. That is why in this research the activity of arginase enzyme in serum was evaluated as a marker of risk for developing cardiometabolic syndrome in 65 workers classified according to the criteria of the NCEP-ATP III, in workers with MCS made up of 24 (36.9%) workers and 41 (63.1%) workers without MCS, of both sexes, with an average age of 53 ± 13 years (control group) from the School of Bioanalysis of the University of Carabobo, Aragua branch. The activity of the enzyme ARG was determined in serum following reaction kinetics by a spectrophotometric method at 580nm. It was found that the absolute ARG activity in workers with MCS was 15.9 times higher than the absolute activity of the control group [34.94 ± 1.099 (μM urea/min)] [2.20 ± 0.607 (μM urea/min)] respectively. Arginase enzyme activity correlated with BMI, WHR, WC, BP and biochemical parameters glycaemia, cholesterol, triglycerides and an inverse correlation with HDL-c. Workers with and without MCS with an ARG activity ≥ 10 μM urea/min) and with MCS have a 2.46 and 0.08 times higher risk, respectively, to develop cardiometabolic diseases compared to those with an activity <10 μM urea/min). These results suggest that workers with increased ARG and SCM enzyme activity have an increased risk of developing cardiometabolic diseases. Thus, ARG enzyme can be used as an early biomarker for the detection of cardiometabolic diseases.

Key words: arginase, cardiometabolic syndrome, urea.

INTRODUCCIÓN

Las Enfermedades cardiovasculares (ECV) y las metabólicas están relacionadas desde el conocimiento clínico, fisiopatológico y tratamiento, por lo que se han combinado en un solo término como cardiometabólicas, estos trastornos incluyen obesidad, hiperglicemia, dislipidemia e hipertensión, entre otros y es lo que se conoce como el Síndrome Cardiometabólico (SCM); los cuales se consideran a su vez factores de riesgo de ECV.

Se trata de un asunto de salud pública grave y la Organización Mundial de la Salud (OMS) la considera como la epidemia del siglo XXI, por su alta morbimortalidad. Para fines de este trabajo de investigación utilizaremos el término Enfermedad Cardiometabólica, es una situación clínica compleja, que se produce en personas genéticamente predispuestas y está condicionada por múltiples factores ambientales (Gonzalez et al., 2021).

Al respecto del Síndrome Metabólico menciona Cortez, 2014, que en la fisiopatología se imbrican alteraciones en el metabolismo glucolipídico, estado proinflamatorio y protrombóticos esta asociación entre ellas se atribuye a la resistencia a la insulina (RI) dichos trastornos metabólicos, ocasionan hipertrigliceridemia, hipocolesterolemia HDL, hiperglucemias, hipertensión arterial.

En los últimos años, la prevalencia del síndrome cardiometabólico (SCM) ha aumentado en todo el mundo y es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad. En Venezuela, algunos estudios aislados sugieren tasas de prevalencia que oscilan entre el 25,8% y el 41,7%, como el de González et al., informaron que el 26,1% de los adultos tenían síndrome metabólico. En 2015, Contreras et al., encontró que la prevalencia de

síndrome metabólico fue del 69,1% y la de diabetes tipo 2 del 25,8% (González et al., 2021). Los criterios de diagnóstico más importantes y comúnmente utilizados para SCM son los establecidos por NCEP-ATPIII, indican que se requieren al menos tres de los cinco criterios: Obesidad abdominal (definida como una circunferencia abdominal en hombres mayor o igual a 102 cm, una circunferencia abdominal en mujeres mayor que o igual a la altura de una mujer 88 cm, triglicéridos séricos ≥ 150 mg/dL o paciente que recibe medicamentos para la hipertrigliceridemia (fibratos), concentración baja de colesterol HDL (< 40 mg/dL en hombres, < 50 mg en mujeres) o tratados con estatinas para hipercolesterolemia, presión arterial $\geq 130/\geq 85$ mmHg o medicación para la hipertensión, glucemia en ayunas ≥ 110 mg/dL o tratados para diabetes (Martín-González et al., 2017).

En los últimos años se ha estudiado nuevos marcadores de riesgo cardiovascular y de Diabetes Mellitus (DM), como la Arginasa (ARG), que es una enzima que pertenece a la familia de las ureahidrolasas que requiere de dos moléculas de manganeso para mantener una correcta función y que es relevante en la patología cardiovascular. Tiene sus orígenes en las primeras formas de vida (Salamanca, 2016).

La arginasa (ARG) es una metaloenzima de manganeso que cataliza la conversión de L-arginina en L-ornitina y urea. Se encuentra en bacterias, levaduras, plantas, invertebrados y vertebrados, y se cree que apareció por primera vez en las bacterias, el ciclo de la urea brinda protección contra el exceso de amoníaco, mientras que la L-ornitina es necesaria para la proliferación celular, la formación de colágeno y otras funciones fisiológicas (Caldwell, et al., 2018).

Condiciones clínicas con actividad enzimática de la arginasa alterada

Se ha descrito que el aumento de la actividad de la arginasa está relacionado con disfunciones y patologías del sistema cardiovascular, el riñón y el sistema nervioso central y también con disfunciones del sistema inmunitario y el cáncer. Es importante señalar dos aspectos importantes de la actividad excesiva de la arginasa que pueden estar implicados en las enfermedades.

El primer aspecto es que, una actividad excesiva de la arginasa puede reducir el suministro de L-arginina necesario para la producción de óxido nítrico (ON) por la ON sintasa. Y, en segundo lugar, un exceso de L-ornitina puede provocar problemas estructurales en la vasculatura, toxicidad neuronal y crecimiento anormal de las células tumorales (Caldwell et al., 2018).

Existen estudios que han demostrado que el aumento de la formación de especies reactivas de oxígeno y de mediadores inflamatorios clave promueve esta elevación patológica de la actividad de la arginasa. Asimismo, la actividad de la arginasa se encuentra alterada en algunas enfermedades metabólicas y autoinmunes, tales como la diabetes mellitus tipo 2 y el Lupus Eritematoso Sistémico respectivamente.

Dado que la detección del síndrome cardiometabólico es una herramienta muy útil para la valoración general de la presencia de diversos factores de riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiometabólicas y diabetes, así como el diagnóstico de enfermedades que no presentan síntomas como la hipertensión y la dislipidemia (Martín-González et al., 2017).

El SCM, cada vez tiene una mayor importancia como factor de riesgo para desarrollar diabetes tipo 2 (DM2) y ECV. Es importante diagnosticar el SCM ya que permite identificar a población en riesgo para desarrollar enfermedad cardiovascular (ECV) y/o diabetes mellitus tipo 2 (DM2) (Guzmán et al., 2010).

Pérez et al., (2019) menciona que diversos estudios en tejidos han demostrado que la función vascular adecuada está asociada a la producción de óxido nítrico (ON), el óxido nítrico desarrolla funciones vasodilatadoras y antiinflamatorias las cuales se encuentran comprometidas en la diabetes. Se ha demostrado que la diabetes mellitus puede disminuir la biodisponibilidad de ON mediante diversos mecanismos, presentándose la disfunción endotelial. Diversos estudios en modelos animales y estudios in vitro sugieren la participación de arginasa en la DM, al ser un competidor directo por el sustrato de la sintasa de óxido nítrico (NOs) disminuyendo la producción de ON.

En investigaciones de Creager et al., (2003) la diabetes puede disminuir la biodisponibilidad del Óxido Nítrico por diversos mecanismos, en el que se incluye la formación de peroxinitritos al reaccionar directamente con radicales libres. La formación de peroxinitritos lleva al desacople de la sintasa de óxido nítrico endotelial (eNOS) y el aumento de la enzima arginasa, desencadenando disfunciones macros y microvasculares asociados fuertemente al estrés oxidativo e inflamación. Inclusive, Yao et al., (2013) ha descrito que niveles altos de glucosa elevan la actividad de la arginasa en células endoteliales coronarias y se cree que este efecto es dependiente de las Rho quinasas.

Cabe destacar también que cuando se encuentra elevado los niveles de glucosa produce como consecuencia una alta producción de superóxido vía NOS, estas observaciones sugieren que la elevada actividad de la arginasa inducida por valores elevados de glucosa resulta en una producción

elevada de superóxido vía NOS, posiblemente ligada a una deficiente disponibilidad de L-arginina desencadenando en el desacoplamiento de la NOS (Romero et al., 2008).

Con respecto a la hipertensión, es un factor de riesgo importante en las enfermedades cardiovasculares. Implica niveles reducidos de ON, aumento de la producción de superóxido, disminución de los niveles del sustrato eNOS L-arginina, cofactor BH4 y aumento de la expresión y actividad de la arginasa (Caldwell et al., 2015).

Ahora bien, muchos casos de enfermedades cardiovasculares se han relacionado con el deterioro de las células endoteliales vasculares producto de la ausencia de ON. La disponibilidad reducida de L-arginina se ha implicado en disfunciones vasculares. Un aumento de la concentración y actividad de la arginasa en suero podría competir con la NOS para su único sustrato; la L-arginina, reduciendo los niveles de ON en consecuencia se produce una disfunción y alteración del endotelio vascular. También se ha demostrado que niveles elevados de L-ornitina, producto final de la arginasa, es un factor clave en la hiperplasia del músculo liso vascular, fibrosis y endurecimiento, participando en varias enfermedades cardiovasculares y lesiones sistémicas (Beleznai et al., 2011).

Se han informado disminuciones de L-arginina en plasma de pacientes diabéticos y tejido vascular de ratas diabéticas. El aumento de la actividad de la arginasa parece estar involucrado. Estudios han demostrado que los aumentos en la actividad de la arginasa y la expresión de A1 están involucrados en la diabetes y la disfunción de la aorta, las arterias coronarias y la retina inducidas por niveles elevados de glucosa (Caldwell et al., 2015).

Dentro de este mismo orden de ideas, se ha demostrado que la actividad de la arginasa está elevada en pacientes con infarto de miocardio agudo y esto estaba correlacionado con la extensión de la necrosis

miocárdica. Además, en pacientes infartados era superior la actividad de la arginasa que en individuos sanos. La expresión de la arginasa siguiendo la isquemia/reperfusión ha sido investigada en varios modelos experimentales, en los cuales se demostró que, en las células endoteliales de las arterias coronarias y células del músculo liso, su actividad se encontraba elevada (Hein, et al., 2003).

De modo similar, la actividad de la arginasa se incrementa en pacientes con cáncer y esta actividad presenta una tendencia a incrementar conforme al estadio de la enfermedad, esto porque al aumentar la actividad de la enzima, aumenta indirectamente la producción de poliaminas que se piensa que se encuentran asociadas en los procesos de proliferación celular (Correa et al., 2013).

La actividad de esta enzima podría ser considerada como un marcador pronóstico en enfermedades cardiometabólicas. El incremento de la actividad de arginasa en plasma es un reflejo de la actividad que presenta el tejido tumoral, sin embargo, es importante señalar que se requiere de un control confiable para poder corroborar esta tendencia (Pérez-Rodríguez, 2010).

Recientemente, en individuos que cumplen con tres de los cinco criterios más importantes y usados para el diagnóstico del SMet según el NCEP-ATPIII, se ha demostrado que la actividad de la enzima ARG juega un papel importante en el proceso inflamatorio resultante de esta condición. Por tal motivo, Pernow y Jung, (2013) mencionan que se ha demostrado un incremento de la actividad de la ARG en numerosas condiciones metabólicas y cardiovasculares, entre las que se incluyen obesidad, hipertensión arterial, aterosclerosis, isquemia del miocardio, insuficiencia cardíaca congestiva y disfunción vascular en la diabetes mellitus.

Debido a las inquietudes generadas con respecto a la determinación de la actividad de la enzima arginasa, se han realizado estudios que datan desde la década de los 60, los cuales arrojan diferentes metodologías que permiten detectar la actividad de esta enzima, tanto en extracto celular como en suero sanguíneo.

Loeb y Stuhlman en el año 1969, en Estados Unidos elaboraron un método cinético colorimétrico con el propósito de determinar la actividad de la enzima arginasa en suero humano. Midieron la actividad de la arginasa a través de la disminución de la L-arginina a una longitud de onda de 525 nm. Las absorbancias y concentraciones del sustrato (L-arginina) expresaron una función lineal y la actividad de la enzima fue interpolada, obteniendo como resultado en los pacientes sanos y enfermos una actividad que oscila entre 0-12 U/mL. Concluyendo que la actividad de la enzima es inversamente proporcional a la concentración del sustrato.

De igual manera en Polonia, Konarska y Tomaszewski realizaron un estudio en el año 1986, en el cual determinaron la actividad de la enzima arginasa por gramo de hemoglobina presente en glóbulos rojos, mediante un micrométodo cuantitativo, basándose en la medición de ornitina por un ensayo colorimétrico. La presencia de ornitina se determina por la formación de un color rojo formado por la interacción de la ornitina con ninhidrina (La ninhidrina reacciona específicamente con el grupo de α -amino de los aminoácidos) en presencia de ácido acético y fosfórico a una longitud de onda de 515nm. Para garantizar que el método fuera cuantitativo, relacionaron la actividad de la enzima obtenida con la concentración de hemoglobina presente obteniendo en adultos valores que oscilan entre $68,3 \pm 22,7$ y en niños $62,7 \pm 15,7$ U/g Hb.

Por otra parte, en España Corraliza *et al.*, (1994) establecieron una investigación en la cual emplean un micrométodo que permitió detectar la actividad de la arginasa en macrófagos de médula ósea obtenidos del fémur de ratones hembra, la lisis de dichas células permitió la liberación de la enzima, la cual al actuar sobre la L-arginina produjo urea; este estudio fue basado en la detección de la actividad de la enzima arginasa mediante la cuantificación de la urea a 540nm, a través de un método enzimático colorimétrico. La producción de urea fue en función del tiempo de incubación de un lisado de macrófagos que fueron activados e incubados obteniendo valores de urea que oscilan entre 0,02-0,05 μmol , demostrando que la actividad de la enzima es directamente proporcional a la concentración de urea.

En este sentido, estudios más recientes realizados en países como Japón, han generado técnicas inmunológicas (ELISA) enzimoimmunoanálisis de adsorción, tal es el caso de la investigación realizada por Ogino, *et al.*, (2013) quienes generaron un método de detección de la actividad de la arginasa. En dicho estudio, se inoculó arginasa humana recombinante purificada en conejos de experimentación con el fin de generar una respuesta inmunológica y obtener así anticuerpos específicos contra la enzima para posteriormente ser utilizados en la realización de la técnica ELISA lo aplicaron en una población sana para detectar los niveles de arginasa. Los resultados obtenidos en el ELISA diseñado fueron comparados con un kit comercial de ELISA, obteniendo niveles de arginasa que fueron de $4,7 \pm 0,2 \text{ ng/mL}$ y $20,3 \pm 0,7 \text{ ng/mL}$, respectivamente; estos valores los correlacionaron con marcadores de inflamación para evaluar el estrés oxidativo en la población sana. Concluyendo, que existe una asociación independiente de la arginasa I con los marcadores de inflamación y que puede reflejar su implicación en el estrés oxidativo y diabetes mellitus.

De igual forma González-Mayo en el año 2018 en Venezuela, estableció un método cinético colorimétrico con el fin de detectar la actividad enzimática de la arginasa en extracto de células sanguíneas. La determinación de la actividad de la enzima arginasa en extracto celular se fundamentó en la capacidad de hidrólisis de dicha enzima sobre el aminoácido L-arginina en urea y ornitina. Esta actividad enzimática fue evaluada a través de la cuantificación de la urea por el método enzimático de Berthelot, mediante una reacción secundaria catalizada por la ureasa; la urea formada por la acción de la arginasa sobre la L-arginina es hidrolizada por la ureasa en amoníaco y CO_2 , el amoníaco reacciona en medio alcalino con salicilato e hipoclorito de sodio para dar indofenol color verde, el cual absorbe luz a 500nm medida espectrofotométricamente, demostrando que a mayor actividad de la enzima arginasa la concentración de urea será mayor.

En un estudio reciente de Ramos y Reidtler en el año 2022 en Venezuela, donde estudiaron la actividad de la enzima arginasa que encuentra incrementada en diversas condiciones metabólicas y enfermedades cardiovasculares; demostró una fuerte relación entre la actividad de la enzima ARG y los valores de glucosa, perfil lipídico, parámetros antropométricos como PA y CA, índice de RI y aterogénicos de Castelli, así como el riesgo que tiene los trabajadores con sobrepeso cuando tienen actividad de la enzima ARG $\geq 25\text{U/mg}$ de proteína a sufrir enfermedades cardiovasculares y metabólicas. Lo que sugiere que las alteraciones en la actividad ARG puede ser indicativo de estrés metabólico. Estas alteraciones también pueden indicar que la ARG puede ser un nuevo biomarcador precoz de estrés metabólico, así como para el desarrollo de diabetes mellitus y de enfermedades cardiovasculares. En esta investigación evaluaron la actividad arginasa en 41 trabajadores con sobrepeso y 45 sin sobrepeso de una operadora turística y una empresa química en Maracay, Estado Aragua y compararon con parámetros bioquímicos y antropométricos, obteniéndose

como resultado una mayor actividad de la enzima en aquellos pacientes que presentaban sobrepeso. Concluyendo que la actividad de la enzima ARG se ve incrementada en hombres mayores de 45 años, individuos con dislipidemia y que la circunferencia abdominal (CA) está fuertemente relacionada con ello. Además, se plantea la posibilidad de que la enzima ARG represente un nuevo parámetro que indique el desarrollo de ECV.

El presente estudio pretende evaluar la actividad de la enzima arginasa en suero como marcador de riesgo para desarrollar síndrome cardiometabólico en trabajadores de la escuela de Bioanálisis de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de Carabobo, sede Aragua. Todo ello con la intención de poder utilizar la determinación de la actividad enzimática de la ARG como un biomarcador precoz de enfermedades cardiometabólicas, esto mediante la valoración el estado metabólico de trabajadores con y sin síndrome cardiometabólico, a través de parámetros bioquímicos y antropométricos y optimización de un método para la determinación en suero de la actividad de la enzima arginasa en trabajadores. Los resultados obtenidos en esta investigación permitirán considerar si la actividad enzimática de la Arginasa pudiese utilizarse como un marcador de riesgo para desarrollar ECV y DMT2 y así contribuir con el diagnóstico precoz y la aplicación de medidas preventivas en la población en estudio.

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

Objetivo General:

Evaluar la actividad de la enzima arginasa como marcador de riesgo para desarrollar síndrome cardiometabólico en trabajadores de la escuela de Bioanálisis de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de Carabobo, sede Aragua en el año 2022-2023.

Objetivos específicos:

- Identificar los trabajadores de la Escuela de Bioanálisis, Sede Aragua, con síndrome cardiometabólico a través de los criterios de la ATP III (parámetros antropométricos y bioquímicos).
- Optimizar condiciones de reacción para la detección de la actividad de la enzima arginasa en suero de trabajadores con y sin síndrome cardiometabólico de la escuela de Bioanálisis, sede Aragua.
- Determinar la actividad de la enzima arginasa en trabajadores con y sin síndrome cardiometabólico de la escuela de Bioanálisis, sede Aragua.
- Relacionar la actividad de la enzima Arginasa con los parámetros antropométricos y bioquímicos en trabajadores con síndrome cardiometabólico de la escuela de Bioanálisis, sede Aragua.
- Establecer el riesgo relativo de desarrollar enfermedades Cardiometabólicas a través de parámetros antropométricos, bioquímicos y de la actividad de la enzima Arginasa en trabajadores de la Escuela de Bioanálisis, sede Aragua.

MATERIALES Y METODOS

Tipo de investigación

Se realizó una investigación experimental, descriptiva y correlacional. Fue experimental, ya que se manipuló y controló las condiciones de la reacción de la actividad ARG mediante un método químico colorimétrico tales como: tiempo de incubación, temperatura de la reacción, concentración del sustrato, volumen de la muestra de suero. Así mismo, fue descriptivo ya que se describió los resultados que se obtuvieron de la determinación de la actividad de la enzima Arginasa, parámetros antropométricos, bioquímicos y características clínicas de los trabajadores de la escuela de Bioanálisis sede Aragua (Sampieri et al., 2014).

Población

La población estuvo constituida por 127 trabajadores administrativos, profesores y obreros de ambos sexos, con y sin enfermedad cardiometabólica de la Universidad de Carabobo.

Muestra

La muestra objeto de estudio estuvo constituida por un total de 65 trabajadores de una Universidad Venezolana, que fueron seleccionados a través de un muestreo no probabilístico de tipo intencional los cuales se clasificaron de la siguiente manera:

TCSCM: (Trabajadores con síndrome cardiometabólico) que estuvo conformado por 24 trabajadores, de ambos sexos, con edades comprendidas entre 38 a 68 años.

TSSCM: (Trabajadores sin síndrome metabólico) que estuvo conformado por 41 trabajadores, de ambos sexos, con edades comprendidas entre 18 a 67 años, (Grupo control).

Criterios de inclusión:

- ✓ Individuos de ambos sexos
- ✓ Edades comprendidas entre 18 y 60 años
- ✓ Individuos con y sin síndrome cardiometabólico

Criterios de exclusión

- ✓ Infecciones agudas descartadas por medio del conteo de leucocitos por encima de 9000 cél/mm^3
- ✓ Enfermedades hepáticas y/o renales
- ✓ Glucemia $\geq 126 \text{ mg/dL}$.

Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Una vez que se seleccionó la muestra, se les informó y entregó un formato de consentimiento informado aprobado por el Comité de Bioética del instituto de investigaciones biomédicas de la universidad de Carabobo (BIOMED-UC), acerca de los riesgos, resultados y sobre la confidencialidad de todos los exámenes que se realizaron en el estudio. Este documento debe ser firmado por el investigador, el paciente y un testigo (Anexo A).

Los pacientes que aceptaron participar en la investigación, se les realizó un interrogatorio y se les llenó una ficha clínica (ANEXO B) donde se registren datos importantes para la investigación, respecto a la identificación de los participantes (nombres, apellidos, edad, sexo, procedencia, raza, peso, talla, circunferencia abdominal, circunferencia de cadera, índice de masa corporal,

tiempo de evolución de las patologías como Diabetes Mellitus y ECV, antecedentes familiares).

Procedimiento experimental

Obtención de la muestra

Una vez citados los pacientes para la toma de la muestra, quienes guardaron ayuno previo de 8-12 horas, se procedió a extraer 10 mL de sangre venosa que fueron distribuidos de la siguiente manera: 3 mL en un tubo con anticoagulante (EDTA), para la realización de la hematología completa. Los 7 mL fueron utilizados para extraer el suero con el cual se realizó el resto de los exámenes: glucosa, triglicéridos, Colesterol total, HDL Colesterol, Creatinina, Urea, Proteínas Totales y la actividad de la enzima arginasa.

Determinación de parámetros antropométricos

Peso: Se determinó con una balanza Health-Meter, previamente calibrada, con el paciente descalzo y en ropa ligera. Los valores obtenidos se expresaron en kilogramos (Kg).

Talla: Se utilizó un tallímetro y las medidas obtenidas se expresaron en metros (m).

Índice de Masa Corporal (IMC)

El IMC se calculó a través de la fórmula $\text{peso}/\text{talla}^2$ (Kg/m²), la masa se determinó con una balanza, previamente calibrada, con el donante descalzo y en ropa ligera; los valores obtenidos se expresaron en Kg. Para la talla se utilizó un tallímetro y las medidas obtenidas se expresaron en metros.

Índice de Cintura Cadera (ICC)

El ICC se obtuvo dividiendo el diámetro de la cintura entre el diámetro de la cadera. Para ello, se determinó la circunferencia de la cintura y de la cadera con una cinta métrica no extensible calibrada en centímetros, estando el donante erguido con los glúteos relajados y los pies juntos. Las circunferencias se midieron de la siguiente manera:

Cintura: en el punto medio entre el reborde costal y la cresta ilíaca.

Cadera: a nivel de los trocánteres mayores o prominencia mayor de los glúteos, que en general coincide con la sínfisis pubiana.

Los valores normales del índice de cintura cadera se consideraron en el intervalo de 0,71-0,85 (mujeres) y 0,78-0,94 (hombres) (Alberti et al., 2010).

Índice Cintura-Talla (ICT).

También conocido como cintura-estatura o cintura-altura, es un indicador antropométrico de adiposidad abdominal que fue empleado a partir de mediados de la década de 1990. Desde entonces, el interés en el uso, la comparación con otros indicadores antropométricos y la evidencia en la eficacia de este indicador ha ido en aumento, tanto en población infantil como adulta y para todas las regiones del mundo entre 0,4 y 0,5.

Índice de Adiposidad Corporal (IAC).

Fue propuesto en 2011 por Bergman et al., como una alternativa al IMC, y está configurado a partir de la circunferencia de la cadera (en centímetros) y la talla (en metros). Su fórmula es la siguiente:

$$IAC = \frac{\text{Circunferencia de la cadera (cm)}}{\text{Talla (m)}^{3/2}} - 18$$

Este índice fue desarrollado con la intención de proporcionar una estimación directa del porcentaje de adiposidad corporal.

Índice de la forma del cuerpo (ABSI)

Indicador de adiposidad central basado en la CC, el IMC y la talla. Su fórmula matemática es:

$$ABSI = \frac{\text{Circunferencia de la cintura (m)}}{[\text{IMC (kg/(m)}^2\text{)}]^{2/3} [(\text{Talla (m)})]^{1/2}}$$

Grasa Corporal

Se distinguen dos grandes tipos de obesidad atendiendo a la distribución del tejido adiposo:

- **Obesidad abdominovisceral o visceroportar, (tipo androide).**

Predominio del tejido adiposo en la mitad superior del cuerpo: cuello, hombros, sector superior del abdomen. Para definir obesidad abdominovisceral se utilizan los siguientes parámetros:

a) **Índice cintura-cadera:** perímetro cintura (cm)/ perímetro cadera (cm). Valores > 0.8 mujer y 1 hombre.

b) **Circunferencia de la Cintura > 100 cm.** Se determinó con una cinta métrica flexible, milimetrada, con el paciente en bipedestación, sin ropa y relajado. Se localizó el borde superior de las crestas ilíacas por encima de este punto se rodeó la cintura con la cinta métrica de manera paralela al suelo, asegurando que esté ajustada, pero sin comprimir la piel. La lectura se realizó al final de una espiración normal.

Determinación de Parámetros Clínicos

Medición de la Presión Arterial

Previo descanso de 5 minutos en posición sentada se procedió a medir la presión arterial a los pacientes, utilizando para ello un tensiómetro semi-automático. Se consideró como riesgo un valor mayor o igual a 130/80 mmHg (Alberti et al., 2010).

Determinación de hemoglobina

Se empleó el método de cianometahemoglobina de la casa comercial BIOSCIENCE el cual se fundamenta en el uso de una solución de ferrocianuro y cianuro de potasio; el primero transforma el hierro ferroso de la hemoglobina en férrico para a su vez, formar metahemoglobina (inestable) y ésta se combina con el cianuro de potasio formando cianometahemoglobina, un derivado muy estable. La densidad óptica del color producido es proporcional a la cantidad de hemoglobina presente, la cual puede ser medida espectrofotométricamente (Stat Fax Omega IV) a 540nm.

En tubos rotulados como blanco, patrón y muestra, se colocaron 5 mL del reactivo trabajo, 0,02 mL de muestra y 0,02 mL de patrón en los tubos correspondientes, se mezclará y se dejará reposar por un tiempo mínimo de 10 minutos a temperatura ambiente, luego se leyó las absorbancias de las muestras y el patrón a 540 nm frente al blanco reactivo. El color es estable por 1 hora. Valores referenciales: Hombres 13,5 – 18,0 g/dl y Mujeres: 11,5 – 16,5 g/dl.

Recuento leucocitario

La condición previa de todos los métodos de recuento es la dilución y preparación programada de una muestra de sangre. La dilución fue efectuada con el líquido de Turk, el cual está compuesto por una solución hipotónica de ácido acético, que lisa a los eritrocitos y plaquetas, el azul de metileno y el violeta de genciana permiten observar los leucocitos que son teñidos ligeramente, además, poseen una acción bacteriostática que ayuda a preservar el reactivo.

El recuento fue realizado por dilución con la pipeta de Thomas. Se enrasó la pipeta hasta la marca 0,5 con sangre, luego se completó con el líquido de dilución de Turk hasta la marca 11 (Dilución 1:20). Se agitó manualmente de manera que ocurra la hemólisis, se desechan las primeras tres gotas del líquido, se vierte en la Cámara de Neubauer, para posteriormente ser observados a través del microscopio óptico con el objetivo de 10x y se procede a realizar el recuento. Valores de referencia: Adultos 4.500 – 11.000 cel/mm³.

Formula leucocitaria (relativa): Se realizó mediante la tinción de una lámina con coloración de Giemsa en un extendido de sangre. Se contaron 100 células blancas, diferenciándolas por sus características agranulares y granulares. VR neutrófilos 55-65%, linfocitos 25-30%, Monocitos 4-8%, Eosinófilos 2-4%, Basófilos 0-1%.

Determinación de Glicemia

Se utilizó el método de glucosa-oxidasa (Seiko y cols., 1979) de la casa comercial BOSCIENCE, la cual cataliza la oxidación de la glucosa a peróxido

de hidrógeno y ácido glucónico. En presencia de peroxidasa, la 4-aminoantipirina e hidroxibenzoato, se oxida por el peróxido de hidrógeno para dar una coloración rojiza. La intensidad de color es proporcional a la concentración de glucosa en sangre. La medición se efectuó a 500 nm en un espectrofotómetro (Stat Fax Omega IV). Valor referencial menor a 100 mg/dL.

En tubos de ensayo marcados como blanco, muestra y patrón, se procedió a añadir 2,5 mL de reactivo de trabajo a cada uno de los tubos y 20 µL de agua, muestra y patrón respectivamente. Se mezcló e incubó a 37°C durante 10 minutos, se ajusta el espectrofotómetro a 0 de absorbancia con el blanco reactivo y se leen las absorbancias de las muestras y el patrón a 510 nm

Determinación de Colesterol Total

Se determinó usando el método enzimático de Colesterol Total, que permite la determinación cuantitativa del colesterol total en plasma y suero humano, técnica colorimétrica basada en reacciones totalmente enzimáticas de la casa comercial BIOSCIENCE. El colesterol está presente en la sangre en forma de ésteres de colesterol, y en la presente metodología, estos ésteres son hidrolizados por la enzima colesterol esterasa, y posteriormente oxidados por el colesterol oxidasa, produciéndose en el proceso agua oxigenada. Ésta se detecta con el sistema Trinder, observándose un color rosado, cuya intensidad es proporcional a la concentración del colesterol (Henry, 1997).

En tubos de ensayo marcados como blanco, muestra y patrón, se procederá a añadir 2,0 mL de reactivo de trabajo a cada uno de los tubos y 20 µL de agua, muestra y patrón respectivamente. Se mezcló e incubó a 37°C durante 10 minutos, se ajustó el espectrofotómetro (Stat Fax Omega IV) a 0 de

absorbancia con un blanco reactivo y se leyó las absorbancias de las muestras y el patrón a 510 nm. Valores de referencia: menores a 180 mg/dL.

Determinación de Triglicéridos

Se realizó usando el método enzimático para la determinación de triglicéridos en suero o plasma. En esta metodología los triglicéridos séricos son hidrolizados por la enzima lipasa y llevados a glicerol -3-fosfato (G-3-P) más ADP mediante la acción de la enzima glicerol kinasa. El G-3-P es entonces convertido en dihidroxiacetona fosfato (DAF) y peróxido de hidrógeno por la acción del glicerol fosfato oxidasa (G.P.O). El peróxido de hidrógeno mediante la acción de la peroxidasa produce un colorante rojo. La intensidad del color producido es directamente proporcional a la concentración de triglicéridos en la muestra cuando es medida a 485 nm (Henry, 1997).

En tubos de ensayo marcados como blanco, muestra y patrón, se procedió a añadir 1,0 mL de reactivo de trabajo a cada uno de los tubos y 10 µL de agua, muestra y patrón respectivamente. Se mezcló e incubó a 37°C durante 5 minutos, se ajustó el espectrofotómetro (Stat Fax Omega IV) a 0 de absorbancia con un blanco reactivo y se leyó las absorbancias de las muestras y el patrón a 485 nm. Los valores de referencia para triglicéridos: son menores a 140 mg/dL.

Lipoproteínas de Alta Densidad (HDL-colesterol)

La separación de las HDL-c en suero se logró mediante el método de precipitación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y quilomicrones (Bachorik et al.,1976) y se utilizó como reactivo precipitante el ácido fosfotúngstico en presencia de iones de magnesio (estuche de la casa comercial Biosciencie). La concentración

sérica de HDL-c en el sobrenadante se determinó por el método enzimático de colesterol total. Para ello se mezclaron 2,5 ml de reactivo de colesterol enzimático con 0,2 ml de sobrenadante incubándose luego por 10 minutos a 37°C. Valores de referencia: Hombres de 33-55 mg/dL; Mujeres de 45-65 mg/dL.

Lipoproteínas de baja densidad (LDL colesterol) y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL colesterol)

Se determinaron indirectamente con la fórmula matemática de Friedewald et al., (1972) para las muestras que no presenten quilomicrones y tengan una concentración de triglicéridos inferior a 400mg/dL. Estas fórmulas se expresan mediante las siguientes relaciones:

VLDL-c = triglicéridos /5. Valores referenciales: <35mg/dl.

LDL-c= colesterol total -(VLDL-HDL). Valores de referencia: <110mg/dl.

Índices aterogénicos y de resistencia a la insulina

Índice aterogénico de Castelli (IC):

Fue calculado con las determinaciones de colesterol total, LDL-c y HDL-c (Castelli y Levitas, 1977), utilizando las siguientes fórmulas:

Índice 1 de riesgo aterogénico: Colesterol Total/HDLc. Índice 1 < 4,5 (Hombres: <5,0; Mujeres <4,5).

Índice 2 de riesgo aterogénico: LDL-c/HDL-c. Índice 1 <3,5
(Hombres: <4,0; Mujeres <3,5).

Índice de resistencia a la insulina:

La resistencia a la insulina se determinó indirectamente utilizando el índice de resistencia a la insulina calculado con la relación entre la concentración de triglicéridos y la concentración de HDL-c (trig/HDL-c). Se estableció como criterio para identificar resistencia un coeficiente mayor o igual a 3,5 (McLaughlin et al., 2005; González-Chávez et al., 2011)

Dicho índice se correlaciona con el índice homeostatic model assessment (HOMA por sus siglas en ingles), del modelo homeostático para evaluar la resistencia a la insulina, ha sido señalado como marcador de insulinoresistencia en personas sin diabetes y predictor para SCM y desarrollo de ECV (Von Bibra *et al.*, 2017). (Avena et al., 2016)

Valor de referencia: ≤ 3 .

Determinación de Creatinina

La cuantificación de la creatinina en suero se realizó a través de la reacción de Jaffé (1886), basada en la formación de un complejo coloreado de picrato de creatinina, formado por la reacción entre la creatinina presente en la muestra con el ácido pícrico, este compuesto coloreado absorbe luz a una longitud de onda de 510nm, mostrando que la absorbancia generada será directamente proporcional a la concentración de creatinina en suero.

Determinación de proteínas totales

Se realizó la determinación de proteínas totales por el método químico colorimétrico de Biuret (Gornall et al., 1949) en sueros de los pacientes sanos, con el fin de obtener la concentración de las mismas. Esta reacción se fundamenta en la capacidad de reacción que tienen los enlaces peptídicos de las proteínas con los iones de cobre presentes en el reactivo en medio alcalino, originando un compuesto coloreado.

En tubos de ensayo marcados como blanco, muestra y patrón, se procedió a añadir 1,0 mL de reactivo de trabajo a cada uno de los tubos y 20 μ L de agua, muestra y patrón respectivamente. Se mezcló y se esperó 10 minutos a temperatura ambiente, se ajustó el espectrofotómetro (Stat Fax Omega IV) a 0 de absorbancia con un blanco reactivo y se leerán las absorbancias de las muestras y el patrón a 545 nm. Los valores de referencia para proteínas totales por este método son de 6,5-8,0 g/dL.

Determinación de urea

La evaluación de los niveles de urea se realizó a través del método enzimático colorimétrico, basado en la reacción de Berthelot (1959). Se rotularon tres tubos como blanco, patrón y muestra y se añadió 0,5mL de reactivo de color y 0,2mL de ureasa a cada tubo, 0,01mL de agua destilada, patrón y muestra de suero respectivamente. Se agitó los tubos, se incubó a 37°C por 5 minutos y se añadió 0,5mL de reactivo de base, se mezcló e incubó a 37°C por 5 minutos y finalmente se agregó 3mL de agua desionizada a todos los tubos. Por último, la absorbancia fue medida espectrofotométricamente a una longitud de onda de 610nm (Bergmeyer et al., 1974; Richterich y Colombo, 1983).

Las lecturas de absorbancia generadas en las determinaciones fueron restadas a las obtenidas al evaluar la actividad de la enzima arginasa, de esta manera se corrige la lectura y se obtiene el valor real de la urea generada a partir del hidrólisis de la L-arginina por acción de la arginasa.

Optimización del método cinético colorimétrico para la detección de la actividad de la enzima arginasa en suero humano

La detección de la actividad de la enzima arginasa en suero sanguíneo se fundamentó en la capacidad que presenta dicha enzima de convertir L-arginina en urea y L-orinitina. a través de la siguiente reacción:



Esta determinación se realizó a través de la cuantificación de urea por el método enzimático de Berthelot (Berthelot, 1959), a través de una segunda reacción catalizada por la ureasa. La urea formada en la reacción de la ARG es transformada en amoníaco y CO₂ por la ureasa y el amoníaco es detectado por la reacción de Berthelot, el amónico con salicilato, hipoclorito de sodio en presencia de nitroprusiato y el indicador de color indofenol que absorbe luz a 580 nm.



La mezcla de reacción estará constituida por un tampón Tris-HCl 0,1 M, pH 9,0-9,5, L-arginina, MnCl_2 0,5 μM y la cantidad de suero, la concentración de sustrato L-Arginina, el volumen de la alícuota de la reacción y el tiempo de incubación fue optimizada (mostrado en los resultados). En la mezcla de reacción se agregó la ureasa. Como control de los ensayos de cinética se realizó sin añadir el sustrato L-arginina, para medir la urea presente en suero, realizando así la corrección de la urea remanente en el suero del paciente.

Las mezclas de reacción se incubaron a 37°C y para seguir la cinética de reacción, se extrajeron alícuotas por unos intervalos de tiempo. En los tiempos especificados se agregaron los reactivos de color (salicilato sódico 60 mmol/L, nitroprusiato sódico 3,2 mmol/L, hipoclorito sódico 140 mmol/L, hidróxido de sodio 150 mmol/L), se incubaron durante 10 minutos a 37°C y posteriormente se leyó la absorbancia a 580 nm en un espectrofotómetro Stat Fax Omega IV.

A partir de los cambios de absorbancia a 580 nm por minuto obtenidos en los diferentes tiempos de reacción, se representó gráficamente las cinéticas de reacción y se determinaron las velocidades iniciales, correspondientes a las pendientes de las rectas al inicio de la reacción. A partir de las velocidades iniciales y empleando el coeficiente de extinción molar del complejo de indofenol formado (5222 $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), se calcularon la actividad enzimática de la siguiente manera:

Actividad de la enzima ARG: μM urea formados/min = $(\mu\text{mol NH}_3/2)$ /min = $(\mu\text{mol indofenol}/2)$ /min

$$[(\Delta A_{580}/\text{seg})/(5222 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot 1\text{cm})]. (\text{factor determinado}) \cdot 10^6$$

El factor determinado se obtuvo de la relación entre el volumen de ensayo de la reacción de Berthelot y el factor estequiométrico entre la urea y el amoníaco o indofenol (2), y entre el volumen tomado de la mezcla de reacción, por el factor de conversión de segundos a minutos (60). El valor 10^6 es el factor de conversión entre mol y μmol .

Para la cuantificación respectiva se definió una unidad de actividad enzimática de ARG (U) como: la cantidad de enzima ARG que cataliza la formación de un μmol de urea por litro por min.

Análisis e interpretación de datos

Para la caracterización de los datos obtenidos se realizó a través de un análisis estadístico de tipo descriptivo utilizándose medidas de tendencia central, de dispersión y análisis de frecuencia, con un nivel de significación estadística ($p < 0,05$) y un grado de confianza del 95%, por medio del programa STATISTIX versión 10.0 y GraphPad.

A fin de establecer las diferencias significativas ($p < 0,05$) entre la actividad enzimática de la arginasa, los parámetros antropométricos y metabólicos de los trabajadores con enfermedades cardiometabólicas y el grupo control, se empleó la prueba de “*t*” *Student* para dos muestras independientes, para las variables que tengan una distribución normal (Test de Normalidad de Will Shapiro) y para las que no tengan distribución normal se empleó la prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney.

Para establecer la asociación entre la actividad enzimática de la arginasa con los parámetros de control metabólico (glicemia, colesterol, HDL-c, VLDL-c, LDL-c y triglicéridos) y parámetros antropométricos, se realizó un análisis de correlación lineal de Pearson, con un nivel de significancia

estadística ($p < 0,05$). Para relacionar la actividad de la enzima arginasa con las variables cualitativas se utilizó la correlación de Spearman.

Para calcular el riesgo relativo de desarrollar enfermedades Cardiometabólicas a través de la actividad enzimática de la arginasa se empleó el cálculo de *odds ratios* (OR) con intervalo de confianza de 95% y un nivel de significancia $p < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Características de la muestra

En este estudio se incluyeron 65 trabajadores de la Escuela de Bioanálisis sede Aragua, de los cuales 44 (65,7%) son de sexo femenino y 23 (34,3%) son de sexo masculino. La edad de los trabajadores estuvo comprendida entre los 38 y 68 años, con un promedio de 53 ± 14 años, en los trabajadores de sexo masculino fue de 53 ± 15 años y la de los de sexo femenino de 53 ± 13 años.

Por otra parte, de los sujetos de sexo femenino que formaron parte de la investigación, el 44% de las trabajadoras con SCM y el 39% del grupo control, ya presentaban menopausia, mientras que el 56% del grupo con SCM y 61% del grupo control, aún no. Los porcentajes restantes corresponden a la población masculina de cada uno de los grupos para los cuales este parámetro no aplica, estos resultados coinciden con los reportados por Galindo *et al.*, 2020 quienes concluyeron la menopausia se asocia significativamente con los indicadores antropométricos, relacionados con la condición nutricional poco saludable. Afirman que existe una relación entre los parámetros antropométricos y el componente hormonal, esto es debido al descenso de los estrógenos circulantes durante el período de envejecimiento ovárico y, por tanto, el aumento del cociente andrógenos/estrógenos y la acción que tienen estos últimos sobre la actividad lipolítica de la lipoproteína lipasa, generándose una acumulación excesiva de ácidos grasos a nivel abdominal (adiposidad visceral) y por ende al aumento de la circunferencia abdominal. En esta investigación se encontró que el 44% de las trabajadoras con SCM tienen menopausia constituyendo esto un factor de riesgo para ECV por su relación con la obesidad visceral.



Figura 1. Identificación de Trabajadores con síndrome cardiometabólico (TCSCM) y Trabajadores sin síndrome cardiometabólico (TSSCM).

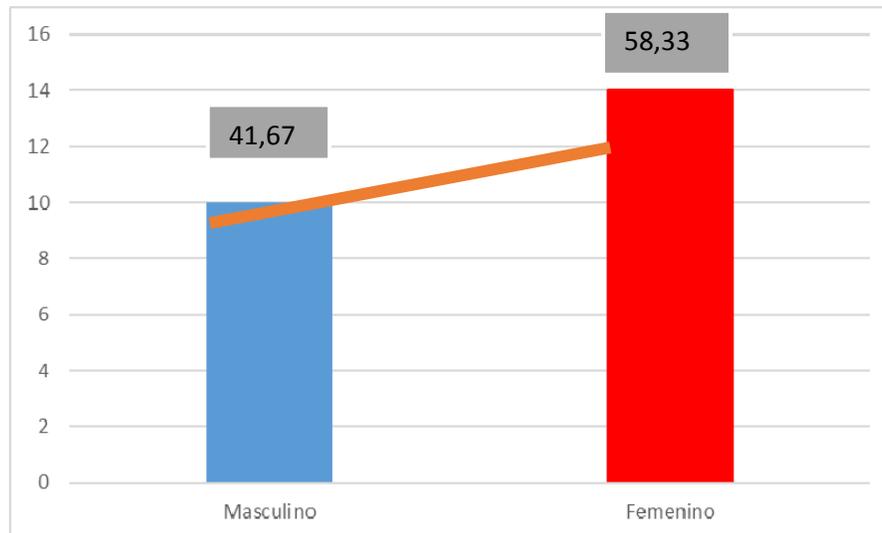


Figura 2. Identificación de trabajadores con SCM, distribuidos según sexo.

Utilizando los criterios diagnósticos de la NCEP-ATP III, un total de 24 (36,92%) trabajadores cumplieron con los criterios para el diagnóstico de SCM, la proporción de personas del sexo femenino con SCM fue de 14 (58,33%) y en el sexo masculino de 10(41,6%) (Figura 2). La edad media de los Trabajadores identificados con SCM fue de 61 ± 9 años y 41(63,3%) trabajadores fueron identificados sin SCM (Figura 1).

Tabla 1. Parámetros antropométricos y bioquímicos en trabajadores con y sin Síndrome Cardiometabólico.

Parámetro	Trabajadores con síndrome cardiometabólico (n=24)	Trabajadores sin síndrome cardiometabólico (n=41)	Valor de p
IMC (Kg/m ²)	29 (20-40)	25,0 (18,0-34,0)	0,00001*
ICC (cm)	0,92 (0,77-1,0)	0,87 (0,71-1,11)	0,0001**
PC (cm)	101 (81-116)	89 (66-116)	0,0000*
PAS (mmHg)	130 (90-179)	114 (88-155)	0,0001*
PAD (mmHg)	85 (84-110)	73 (59-96)	0,0004*
Glucosa (mg/dL)	116 (77-226)	87(69-115)	0,0185 ^{NS}
CT (mg/dL)	186 (103-285)	169(100-223)	0,012 *
TG (mg/dL)	107 (37-266)	73 (37-169)	0,0123 *
HDLc (mg/dL)	43 (33-60)	47 (36-65)	0,2006 ^{NS}
Masculino			
HDLc (mg/dL)	40(30-55)	45(27-63)	0,123 ^{NS}
Femenino			
LDLc (mg/dL)	122 (40-187)	128 (30-172)	0,0058 **
VLDLc (mg/dL)	21 (7-53)	15 (4-34)	0,0133 *
CT/HDLc	4,4 (2,4 – 6,40)	3,74 (2 – 7,6)	0,1480 ^{NS}
LDLc/HDLc	2,9 (0,9 – 4,5)	2,42 (0,60 – 6,0)	0,2098 ^{NS}
TG/HDLc	2,7 (0,8-7,2)	1,58 (1,4-3,4)	0,0297*

IMC (índice de masa corporal), ICC (índice cintura cadera), PC (perímetro de cintura), PAS (presión arterial sistólica), PAD (presión arterial diastólica), CT (colesterol total), TG (triglicéridos), HDLc (lipoproteína de alta densidad), LDLc (lipoproteína de baja densidad), VLDLc (lipoproteína de muy baja densidad), CT/HDLc (Índice colesterol total/lipoproteína de alta densidad), LDLc/HDLc (Índice lipoproteína de baja densidad/lipoproteína de alta densidad), TG/HDLc (Índice triglicéridos/lipoproteína de alta densidad), Los valores representan la mediana y P₂₅ - P₇₅ (*p <0,05); NS[(no significativo (P>0,05))].

En los trabajadores estudiados, los componentes individuales del SCM más frecuentes encontrados fueron PA ≥ 130/85 mmHg, el c-HDL bajo y el

perímetro de cintura aumentada. En los trabajadores sin SCM, los componentes individuales más frecuentes son el perímetro de cintura aumentada y el c-HDL bajo. En cuanto a los parámetros antropométricos, se observó que, en los pacientes con SCM, los valores se encuentran por encima del promedio en relación a los pacientes sin SCM.

Al comparar los parámetros antropométricos y clínicos de los TCSCM y TSSCM, se encontraron diferencias con respecto al parámetro de presión arterial TCSCM PAS 130 (90-179mmHg) y PAD 85 (84-110 mmHg), con los TSSCM que fueron PAS 114 (88-155 mmHg) y PAD 73 (59-96 mmHg), los resultados obtenidos de PAS fueron mayores y significativos ($p=0,0001$) con respecto al PAD ($p=0,0004$).

Por otra parte, el IMC es el índice más común empleado como predictor de factor de riesgo en HTA y DM2, y usado también como factor de riesgo para el SCM. En este estudio se encontró que en los trabajadores con SCM, los parámetros de IMC, ICC y PC se encuentran aumentados en comparación con los trabajadores sin SCM (grupo control), estos resultados sugieren que los trabajadores con SCM tienen un mayor riesgo de desarrollar enfermedades cardiometabólicas, tal como se ha señalado que el ICC es un buen indicador antropométrico de la obesidad abdominal (Ma et al., 2013), así mismo la OMS establece que PC el valor máximo saludable del perímetro abdominal es 80 centímetros en la mujer, mientras que en el hombre el valor es de 90 centímetros.

Así mismo Condori-Huanca (2021), menciona que la obesidad es un problema de salud pública a nivel mundial, en todos los grupos de edad, se caracteriza por un aumento de la adiposidad y peso corporal que aumenta el riesgo a contraer factores de riesgo para enfermedades cardiometabólicas, como desarrollo de insulinoresistencia, DM2 y ECV.

Al comparar los parámetros bioquímicos de los trabajadores con síndrome cardiometabólico con los del grupo control (Tabla 1). Se pudo observar diferencias significativas para las variables: Colesterol total, triglicéridos; no obstante, no hubo diferencia significativa entre las variables HDLc (mg/dL) tanto en el grupo Masculino como femenino. Así mismo se observó que 14 (58,33%) de los TCSCM y 21(51,21%) de los TSSCM tiene disminución del HDL-c, estos resultados sugieren que tanto en los trabajadores con y sin SCM los valores de HDL-c están por debajo de los valores establecidos, y representan un riesgo para enfermedades cardiometabólicas dado que el HDL-c disminuido se relaciona con los procesos proinflamatorios y riesgos cardiovasculares. Esta disminución del HDLc posiblemente se deba a lo que señala Hannon *et al.*, 2019, describe, que el aumento de los valores de triglicéridos y colesterol no HDL promueve el intercambio de Tg y VLDLc por ésteres de colesterol de partículas de LDLc y HDLc, creando lipoproteínas pequeñas y pobres en lípidos. Las partículas pequeñas de HDLc son más susceptibles a la degradación, lo que contribuye a las concentraciones bajas de colesterol HDL.

En cuanto al índice de Tg/HDL-c Se observó que TCSCM tuvo valores significativamente mayores a 3 (2,7 (0,8-7,2), de este modo 6(28,57%) de los TCSCM y 2(4,8%) de TSSCM tienen un índice mayor a 3, es decir, presentan resistencia a la insulina. Estos resultados son comparables con el estudio de Belalcazar *et al.*, 2020, quienes demostraron que a través de la relación Tg/HDLc, se puede diagnosticar de manera precoz ECV y puede estar asociada con resistencia a la insulina. Por otra parte, Hayat *et al.*, (2008), mostraron una significativa relación entre el índice de HOMA y la relación Tg/HDL-c.

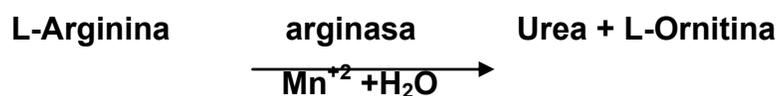
Así mismo, se conoce que las lipoproteínas ricas en Tg (VLDLc, quilomicrones y sus restos) tienen propiedades aterogénicas ya que el

aumento de la concentración de esta lipoproteína contribuye al síndrome cardiometabólico, siendo esta un aspecto clave de la salud metabólica (Tenenbaum et al., 2014).

2. Optimización de las condiciones de reacción para la detección de la actividad de la enzima arginasa en suero de trabajadores de la escuela de Bioanálisis, sede Aragua.

Para cumplir con el objetivo de optimizar las condiciones de reacción de la enzima ARG en suero, se tuvo como punto de partida, la optimización de las condiciones de reacción de la enzima ARG en extractos de células sanguíneas, realizada por González-mayo, 2018, en instituto de Investigaciones Biomédicas (BIOMED-UC), en el Laboratorio de Bioquímica y Ácidos Nucleicos.

La determinación espectrofotométrica, de la actividad enzimática, se fundamentó, en el acoplamiento de la reacción de hidrólisis de la enzima ARG sobre su sustrato L-arginina, en presencia de agua, Mn^{+2} , formando urea y L-Ornitina., la urea formada como producto de esta reacción , es hidrolizada a través de una segunda reacción catalizada por la ureasa, transformándose en amoníaco y CO_2 y el amoníaco es detectado por la reacción de Berthelot, el cual se basa en la reacción de indofenol que absorbe luz a 580 nm, a partir de la reacción del amoníaco con salicilato, hipoclorito de sodio y nitroprusiato, es decir la determinación de la actividad de la enzima ARG se realizó indirectamente a través de la cuantificación de urea por el método enzimático de Berthelot (Berthelot, 1959). El resumen de las reacciones es el siguiente:



Nitroprusiato



Para optimizar las condiciones de reacción, se determinaron parámetros cinéticos de la actividad ARG en suero humano, teniendo presente que estudios previos han demostrado que todas las isoformas de arginasa, requieren como condiciones óptimas para reaccionar: sustrato L-Arginina, un cofactor metálico el Mn^{+2} es el activador fisiológico, sin embargo, se han reportado el Co^{+2} , Ni^{+2} , Fe^{+2} , VO^{+2} y Cd^{+2} como cofactores. La mayoría de las isoformas de arginasa requieren de un pH óptimo alcalino, mostrando una V_{max} en el rango de pH 9,0-9,5 y una temperatura óptima de acción de 37°C (Ash, 2004) (Langle et al., 2014).

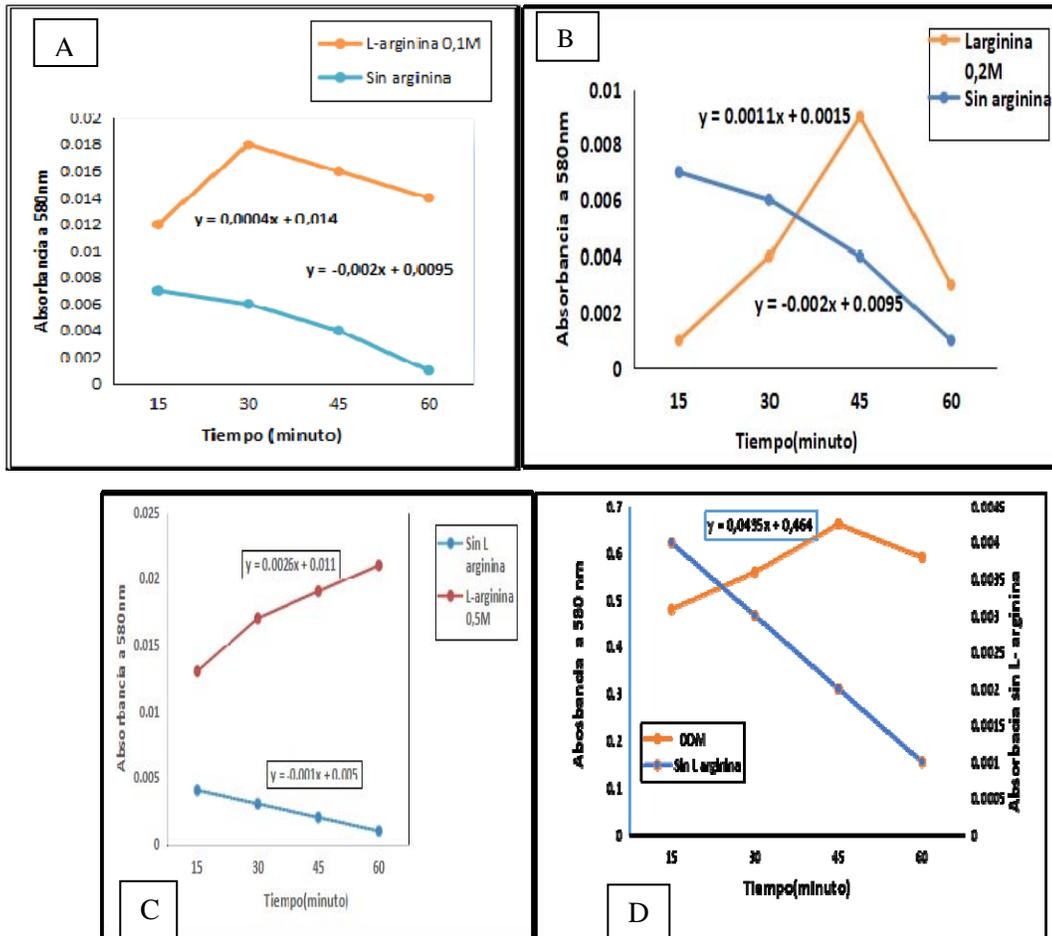


Figura 3. Actividad enzimática de Arginasa. A. Cinética de reacción, utilizando *0,1M de L-arginina. **B.** Cinética de reacción, utilizando *0,2M L-arginina. **C.** Cinética de reacción utilizando 0,5M de L-arginina versus tiempo durante una hora de incubación. La urea formada durante la reacción fue determinada como se indica en Materiales y Métodos. Se presentan la cinética de reacción con las mismas condiciones sin el sustrato L-arginina en cada uno de los ensayos. **D.** Cinética de reacción de un paciente diagnosticado con Diabetes tipo 2. (control del ensayo). Las velocidades iniciales fueron determinadas de las pendientes de las rectas en la gráfica de la cinética de reacción.

Previo a la determinación de la actividad de la enzima ARG en suero de los trabajadores, se procedió a optimizar la concentración del sustrato L-arginina. Se realizaron los ensayos de cinética de hidrólisis en presencia de diferentes concentraciones de L-arginina: 0,1M, 0,2M, 0,5M en un volumen final de reacción de 1000 uL, con una cantidad fija de suero de un donante sano, usado como control (Figura 3 A.B.C.). En todos los ensayos se utilizó

un control sin añadir el sustrato L-arginina, observando un pequeño aumento de la velocidad de reacción de la enzima ARG, en los primeros 15 minutos de incubación, probablemente este aumento inicial de la absorbancia se deba a reacciones iniciales con la urea presente en el suero (Figura 3 D.).

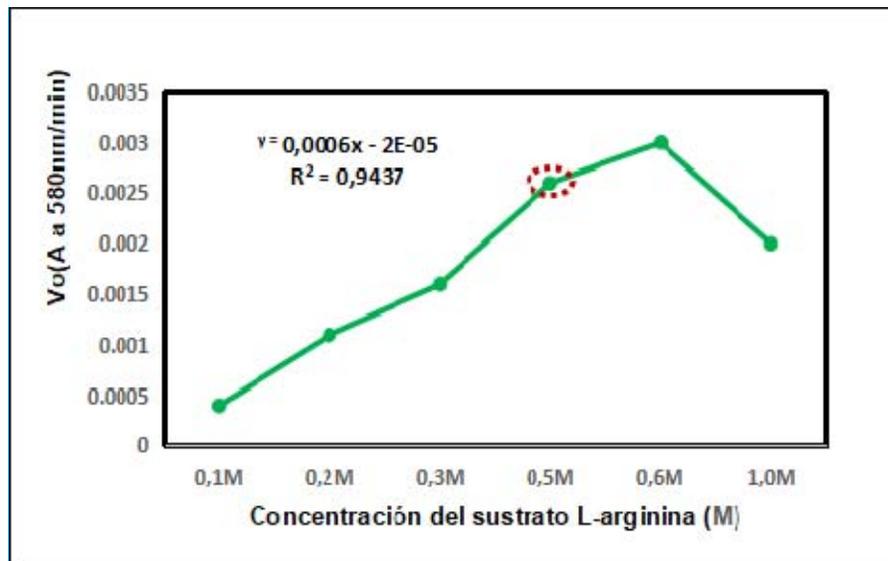


Figura 4. Relación de la velocidad inicial de reacción de ARG con la Concentración del sustrato L-arginina. Se probaron diferentes concentraciones de L-Arginina (entre 0,1 a 1,0 M). La velocidad máxima alcanzada por la ARG fue de 0,5 a 0,6 M.

En la gráfica de velocidad inicial de la enzima ARG (figura 4), frente a la concentración del sustrato L-arginina, presento un comportamiento sigmoideal, que indica una cooperatividad positiva de sustrato y que implica cambios conformacionales que incrementan la afinidad de la enzima por el sustrato, a medida que aumenta la concentración de este. La velocidad máxima se alcanzó alrededor de 0,5 a 0,6 M por lo que se utilizó 0,5M de L-arginina como sustrato en la reacción final, en la figura 4, se muestra que la relación entre la velocidad inicial de la reacción y la cantidad de sustrato L - arginina es mayor cuando se empleó 0,5M garantizando que la enzima se encuentre saturada.

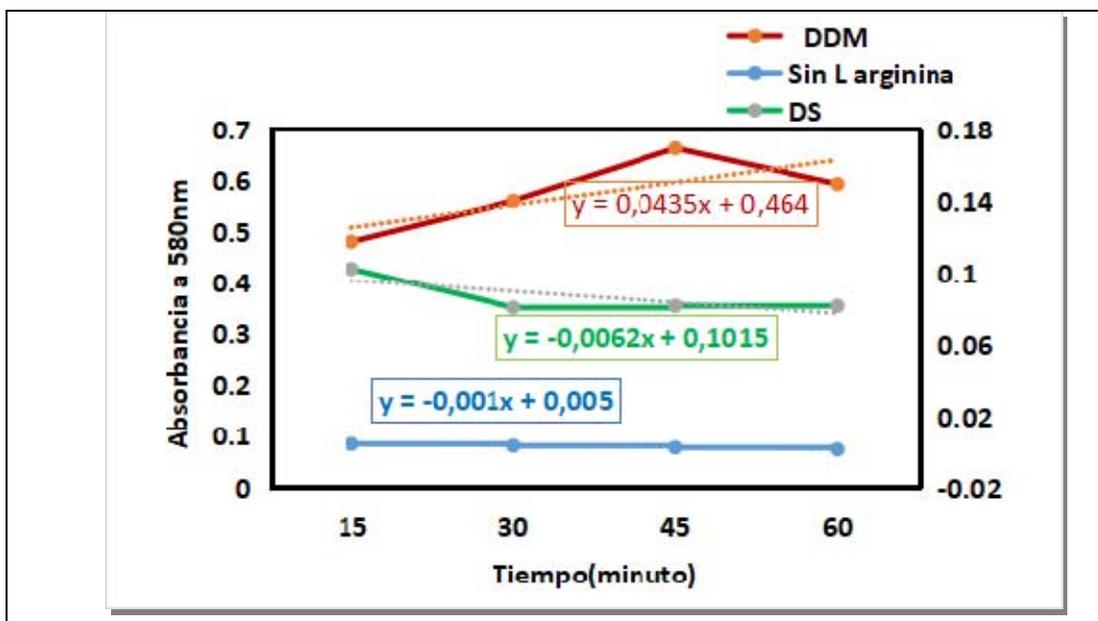


Figura 5. Cinética de reacción de la enzima ARG, en presencia y ausencia 0,5M de L- arginina. — La cinética de reacción sin el sustrato L-arginina corresponde al suero de un donante aparentemente sano. — La cinética de reacción del suero del donante sin diabetes con dislipidemia en presencia de sustrato L-arginina — La cinética de reacción del donante con diabetes mellitus tipo 2. Las velocidades iniciales fueron determinadas de las pendientes de las rectas en las gráficas de las cinéticas de reacción.

Con la finalidad de verificar que el diseño del método y protocolo de ensayo diseñado para detectar actividad en ARG en suero, conjuntamente con la optimización de la concentración del sustrato L-arginina, manteniendo la misma cantidad de suero, y 0,5M de L-arginina como sustrato. Se realizaron ensayos con suero de un paciente diagnosticado con diabetes mellitus tipo 2, dado que estudios previos (Kashyap et al., 2008) (Gonzalez-Mayo, 2018), han demostrado que en pacientes con diabetes la actividad ARG esta aumentada (Figura 3D), se observa que la velocidad inicial de reacción, la cual es proporcional a la actividad de la enzima ARG, fue cuatro veces mayor en el suero del paciente con diabetes ($0,0435\Delta A_{580}/\text{min}$), en comparación con la actividad del donante sin diabetes ($0,0022\Delta A_{580}/\text{min}$, $p < 0,05$) (Figura 5). Observándose una cinética de reacción siete veces más alta en el donante con diabetes mellitus ($0,0435\Delta A_{580}/\text{min}$), en comparación

con la cinética de reacción del donante sin diabetes con dislipidemia ($0,0062 \Delta A_{580}/\text{min}$); esto permitió evidenciar la capacidad del método y condiciones del sustrato para determinar actividad ARG.

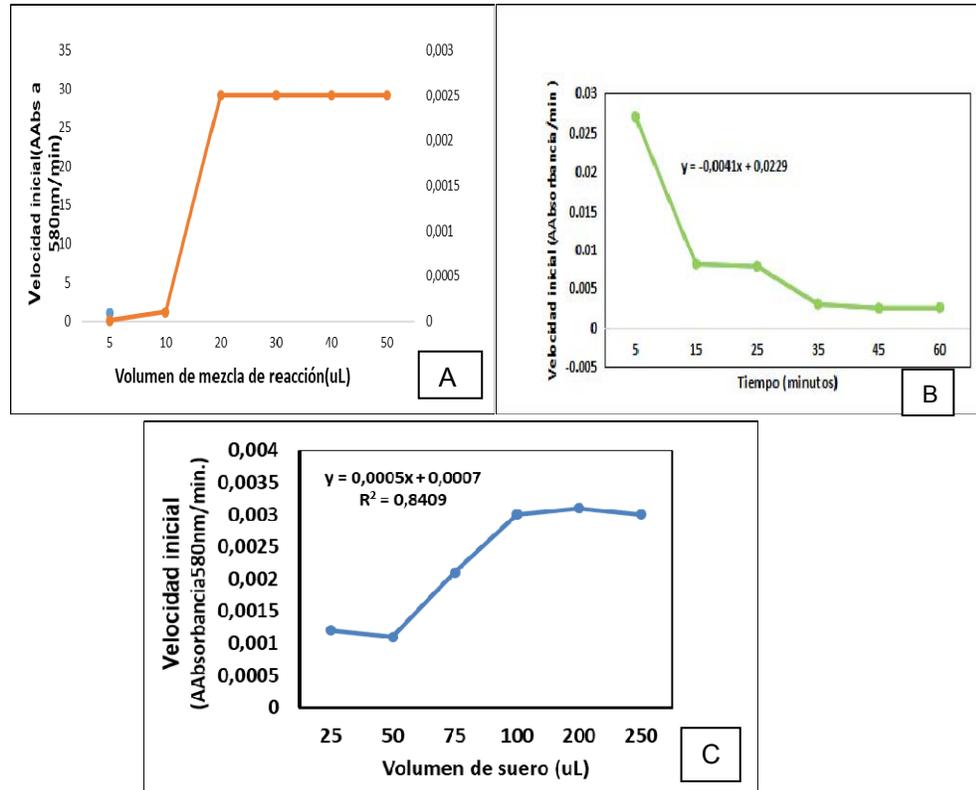


Figura 6. Relación velocidad inicial, tiempo y volumen muestra. A. Relación de la velocidad inicial de reacción de ARG variando el volumen de la alícuota de la mezcla de reacción, con la Concentración del sustrato L-arginina 0,5 M. Se probaron diferentes varias alícuotas de la mezcla de reacción. La velocidad máxima alcanzada por la ARG fué de 0,20 a 30uL. **B.** Cinética de reacción del tiempo de incubación del ensayo de hidrólisis de la enzima ARG *in vitro* a 37°C. **C.** Velocidad inicial de reacción de ARG variando el volumen de la muestra de suero de un donador aparentemente sano.

El otro componente evaluado fue el volumen de muestra de suero, se hicieron experimentos, utilizando suero de un donante aparentemente sano, la cantidad de muestra de suero fue desde 50uL, 100uL, 200uL, 300uL por ensayo. La velocidad de reacción con mayor eficiencia se obtuvo con 100uL y 200uL de suero, que representa la cantidad de enzima (Figura 6.C). Con la máxima cantidad de enzima se evidenció una velocidad inicial igual, por lo que se decidió tomar como volumen de muestra 100 uL de suero.

El tiempo de incubación del ensayo de hidrólisis de la enzima ARG *in vitro* a 37°C, se estandarizó mediante estudios cinéticos desde 1 a 5min, hasta 1 hora de reacción. Utilizando las condiciones previamente optimizadas, se determinó una producción máxima de urea por mL de mezcla de incubación, con poca producción adicional a partir de 5 min de incubación (Figura 6 B). Esta producción de urea, fue compatible con el consumo de 0,1 M y 0,2 M de L-arginina, adicionada al principio del ensayo. Por consiguiente, se decidió suplementar el ensayo con 0,5 M y 1M hasta 5 min de incubación (figura 6 B).

Finalmente, después de optimizar la concentración de sustrato, volumen de muestra, alícuota de mezcla de reacción y tiempo de incubación, la determinación de la actividad ARG en suero de los trabajadores con y sin SCM fue realizada utilizando la siguiente mezcla de reacción: tampón Tris-HCl 0,1 M, pH 9,0, MnCl₂ 0,5 µM. Se realizó la incubación de 250 uL de H₂O, 250 uL de tampón y la cantidad de 100 uL de suero, por 5 minutos a 37°C. Se le adiciono el sustrato L-arginina 0,5 M la cantidad de 300 uL, se agregó 100 uL de la ureasa. En un volumen final de 1000 uL. En cada ensayo se realizó un control sin el sustrato L-arginina.

Las mezclas de reacción se incubaron a 37°C y para seguir la cinética de reacción, se extrajeron 20 µL de alícuotas por unos intervalos de tiempo durante un tiempo determinado. En los tiempos especificados (1min, 2 min, 3 min, 4 min y 5 min) se agregó el cromógeno (salicilato sódico 60 mmol/L, nitroprusiato sódico 3,2 mmol/L, hipoclorito sódico 140 mmol/L, hidróxido de sodio 150 mmol/L), se incubaron durante 5 minutos a 37°C y posteriormente se leyó la absorbancia a 580 nm en un espectrofotómetro, modelo Stat Fax Omega IV.

A partir de los cambios de absorbancia a 580 nm por minutos obtenidos en los diferentes tiempos de reacción, se representó gráficamente las cinéticas de reacción y se determinaron las velocidades iniciales, correspondientes a las pendientes de las rectas al inicio de la reacción. A partir de las velocidades iniciales y empleando el coeficiente de extinción molar del complejo de indofenol formado (5222 M⁻¹cm⁻¹).se calcularon la actividad enzimática de la siguiente manera:

$$\text{Actividad de la enzima ARG: } \mu\text{mol urea formados/min} = [(\mu\text{mol NH}_3/2) / \text{min} = (\mu\text{mol indofenol}/2) / \text{min}]$$

$$[(\Delta A_{580}/\text{min}) / (5222 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot 1\text{cm})]. (\text{factor determinado}) \cdot 10^6$$

El factor determinado se obtuvo de la relación entre el volumen de ensayo de la reacción de Berthelot y el factor estequiométrico entre la urea y el amoníaco o indofenol (2), y entre el volumen tomado de la mezcla de reacción, por el factor de conversión de segundos a minutos. El valor 10⁶ es el factor de conversión entre mol y umol.

Para la cuantificación respectiva se definió una unidad de actividad enzimática de ARG (U) como: la cantidad de enzima ARG que cataliza la formación de un micromolar de urea por litro por minuto a 37°C (μM/min).

3. Determinación de la actividad de la enzima arginasa en trabajadores con y sin Síndrome cardiometabólico

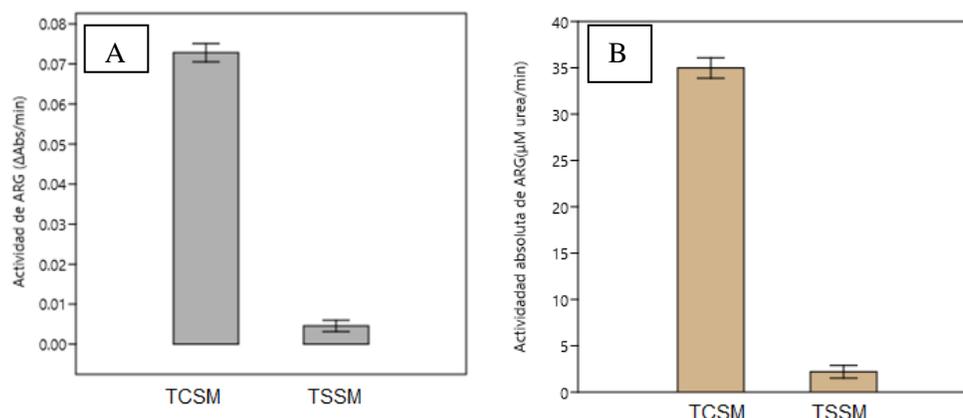


Figura 7. A. Velocidad inicial de la actividad de la ARG (ΔAbs 580nm/min) B. Actividad absoluta de ARG

Utilizando las velocidades iniciales de reacción, y el coeficiente de extinción molar del complejo indofenol que absorbe radiación a 580 nm, el cual está relacionado con la urea formada en la reacción catalizada por la ARG, se calcularon las actividades absolutas enzimáticas como se indica en Materiales y Métodos. En la Figura 7.B, se muestran las actividades absolutas promedio con sus respectivos errores estándar. La actividad absoluta del grupo de trabajadores con SCM [$34,94 \pm 1,099$ (μM de urea/min)] fue 15,9 veces mayor que la actividad absoluta del grupo control [$2,20 \pm 0,607$ (μM de urea/min)]. La diferencia observada según el análisis estadístico fue significativa ($P = 0,001$), y ello indica que hubo mayor actividad de la enzima ARG en suero de los trabajadores con SCM.

El estudio realizado por Jung et al., 2013, menciona que la actividad de la enzima arginasa se encuentra aumentada en adolescentes con sobrepeso y está asociada fuertemente con los diferentes parámetros antropométricos, con la hipertensión arterial, y con parámetros bioquímicos asociados a un aumento en los niveles altos de colesterol, lipoproteínas de

baja densidad y niveles bajos de lipoproteínas de alta densidad colesterol donde encontraron que es el coeficiente de correlación más fuerte. En la cual se pudo observar que el parámetro PC fue el más significativo y que posiblemente podría contribuir al aumento del riesgo cardiovascular en estos sujetos. Estos resultados se asemejan con los obtenidos en el presente estudio. Esto incluye diabetes mellitus tipo 2, hipertensión, pubertad temprana, irregularidades menstruales y síndrome de ovario poliquístico, esteatohepatitis, apnea del sueño, asma, trastornos musculoesqueléticos.

En otro estudio de Kim et al., (2012), demostraron que hay un aumento en la expresión de los niveles de ARNm de arginasa I en las células mononucleares periféricas sanguíneas (PBMC por sus siglas en inglés) de personas adultas. Mientras que un estudio realizado por Erdely et al., (2010), en ratones demostró que un nivel de dieta alta en grasas y colesterol redujo la biodisponibilidad global de arginina, elevando la arginasa plasmática y el aumento de la actividad de la enzima ARG en diferentes órganos vitales.

4. Relación de la actividad de la enzima arginasa con los parámetros antropométricos y bioquímicos en trabajadores de la escuela de Bioanálisis, sede Aragua

Las correlaciones de la actividad de la enzima ARG con los parámetros antropométricos de los grupos de estudio se evidencian en la tabla 2.

Tabla 2. Correlación de la actividad de la enzima ARG con parámetros antropométricos de los trabajadores con SCM de la Escuela de Bioanálisis, Sede Aragua de la Universidad de Carabobo.

VARIABLE	R (correlación de Pearson)	P (probabilidad)
PAS	0,7475	0,0000*
PAD	0,4225	0,0001*
IMC	0,357	0,045*
Cadera	0,6328	0,0000*
PC	0,8503	0,0000*
ICC	0,6530	0,0000*
%GC	0,29268	0,1681(NS)
RCA	0,2023	0,3369 (NS)

PAS: presión arterial sistólica; **PAD:** presión arterial diastólica; **IMC:** índice de masa corporal; **ICC** (índice cintura cadera), **PC** (perímetro de cintura); **%GC:** % de grasa corporal; **RCA:** razón cintura altura. **P>0.05:** no hubo correlación significativa. **P<0.05:** correlación significativa *.

La actividad de la enzima ARG se encontró una correlación significativa entre los trabajadores con y sin SCM, en relación de los diferentes parámetros antropométricos evaluados, a excepción de %GC y RCA que no se correlaciono con la actividad de ARG ($p>0.05$). Estos resultados se asemejan al estudio realizado por Shatanawi et al., en donde se demostró que la actividad arginasa está relacionada con la hipertensión arterial, coincidiendo con los resultados de esta investigación donde se encontró una relación significativa de la enzima ARG con la PA en los TCSCM ($p<0,05$). Estos resultados sugieren que el aumento de la actividad de la enzima ARG está relacionada con el aumento de la HTA, tal como lo señala Hernández (2011), que, debido a la baja disponibilidad del óxido nítrico producido por la disfunción endotelial, estrés oxidativo y desacople del óxido nítrico sintasa (NOS), la actividad de la enzima Arginasa aumenta.

Recientemente en otro estudio donde se evaluó la actividad excesiva de arginasa se demostró que ha funcionado como un factor crítico

relacionado en el desarrollo de numerosas enfermedades cardiometabólicas, en la cual se encuentra asociadas con una disminución de la biodisponibilidad de ON (óxido nítrico) y la disfunción endotelial (Shemyakin *et al.*, 2012). Por otro lado, en cuanto a la correlación directa de la enzima ARG con %GC; no existe hasta el momento literatura disponible con diferencia significativa en personas o animales, sin embargo, en el presente estudio, se observó que el exceso de grasa corporal específicamente la grasa abdominal incrementa el riesgo de desarrollar enfermedad cardiometabólica (OMS, 2018).

La actividad de la enzima ARG demostró estar fuertemente asociado con el resto de los parámetros antropométricos, en especial la circunferencia de la cintura y la circunferencia de la cadera. Basándonos en investigaciones previas de Jung *et al.*, (2014) en adolescentes, el coeficiente que más se correlacionó con la actividad elevada de la ARG fue la circunferencia abdominal o circunferencia de la cintura. Sabiendo la importancia que cumple la arginasa en la disfunción endotelial, la enzima ARG pueden representar un vínculo entre la obesidad, la disfunción endotelial y las comorbilidades relacionada como SCM. En tal sentido Ortiz-Rodríguez *et al.*, (2015), menciona, que la relación entre indicadores antropométricos como exceso de peso corporal, resistencia a la insulina y algunos bioquímicos como el incremento de los niveles sanguíneos de glucosa y triglicéridos se explican por la adiposidad abdominal, riesgo para el desarrollo de enfermedades metabólicas.

En base a los resultados obtenidos de la relación de los parámetros antropométricos y la actividad de la enzima ARG, se puede inferir que al incrementar el sobrepeso, la circunferencia de la cintura y la circunferencia de la cadera aumenta significativamente la actividad de la enzima ARG ($p < 0,05$), estos parámetros antropométricos están asociados con la obesidad visceral, la cual representa un mayor riesgo de desarrollar enfermedades

cardiometabólicas, al encontrarse relacionada con la actividad de la enzima ARG, se puede inferir que la ARG puede ser un posible marcador precoz de riesgo para SCM.

Los resultados presentados en la tabla 3 corresponden a la correlación de la actividad enzimática de la ARG con los diferentes parámetros bioquímicos evaluados en los TCSCM, observándose una correlación positiva entre dichos parámetros y la actividad de la enzima, a excepción del HDLc, el cual muestra una relación inversamente proporcional con la actividad de la enzima ARG. Esto quiere decir que al haber una disminución del mismo se verá incrementada la actividad de la ARG, es decir, son indirectamente proporcionales el uno del otro.

Tabla 3. Correlación de la actividad de la enzima ARG con parámetro bioquímicos de los trabajadores con SCM de la escuela de Bioanálisis, Sede Aragua de la universidad de Carabobo.

VARIABLE	r (correlación de pearson)	p (probabilidad)
Glicemia (mg/dL)	0,2831	0,0083*
CT (mg/dL)	0,8988	0,015*
Tg (mg/dL)	0,850	0,0078*
VLDLc (mg/dL)	0,2864	0,0075*
LDLc (mg/dL)	0,8541	0,0012*
Colesterol no HDLc (mg/dL)	0,8945	0,0023*
HDL (mg/dL)	-0,3572	0,0007*
LDL/HDLc	0,5717	0,014*
Tg/HDLc	0,9595	0,0010*

R (coeficiente de correlación), p (probabilidad), CT (colesterol total), TG (triglicéridos), HDLc (lipoproteína de alta densidad), LDLc (lipoproteína de baja densidad), VLDLc (lipoproteína de muy baja densidad), CT/HDLc (Índice colesterol total/ lipoproteína de alta densidad), LDLc/HDLc (Índice lipoproteína de baja densidad/lipoproteína de alta densidad), TG/HDLc (Índice triglicéridos/lipoproteína de alta densidad); *p <0,05; * . : correlación significativa >0.05: no hubo diferencia significativa (NS).

El efecto del HDLc sobre la actividad de la ARG en los trabajadores con y sin SCM, fue inverso al producido por los triglicéridos, colesterol, LDLc y VLDLc. Los bajos niveles de HDLc se correlacionaron con un aumento de la actividad de la enzima y la mayoría de los trabajadores con esta condición se encontraron en el grupo con SCM

En este estudio se obtuvo una asociación significativa ($p < 0,05$) entre el Tg/HDLc, el LDL/HDLc y la actividad de la enzima ARG, (Tabla 3), esto sugiere que la resistencia a la insulina aumenta la expresión del gen que codifica la enzima ARG, y por lo tanto aumenta la actividad de la enzima ARG. Estos resultados se sustentan con los estudios realizados por Olamoyegun et al., (2016), donde se observa que a medida que aumenta el índice Tg/HDL, aumenta la probabilidad de desarrollar resistencia a la insulina y una hay una elevada actividad de la enzima ARG.

Estos resultados coinciden con los reportados por Kashyap et al., (2008), donde concluyo que la actividad de la enzima ARG aumenta en sujetos diabéticos tipo 2 resistentes a la insulina con actividad alterada del NOS en comparación con sujetos no diabéticos de la misma edad/peso. Lo que indica un importante efecto regulador de la insulina en la actividad enzimática de la ARG. En esta investigación se encontró una relación significativa entre actividad de la actividad arginasa ($r=0,2831$) ($p=0,0083$), con la hiperglucemia en los trabajadores con SCM. Infiriendo que la actividad de la arginasa en suero aumenta en trabajadores con hiperglicemia y SCM. El aumento de glucosa puede contribuir al aumento de la actividad de la enzima arginasa en pacientes con SCM. Al existir una hiperglicemia se produce una hiperglucotoxicidad que se ha relacionado con el aumento del estrés oxidativo y disfunción de las células B pancreática contribuyendo con el riesgo de desarrollar diabetes mellitus, en el estudio de Oginö et al. (2011), donde sus resultados sugieren que los niveles de glucosa también son

responsables de la estimulación de la actividad de la arginasa *in vivo* en células endoteliales.

5. Riesgo relativo de desarrollar enfermedades cardiovasculares a través de parámetros antropométricos y de la actividad enzimática de la ARG.

Tabla 4. Actividad de la enzima ARG como marcador de riesgo para sufrir enfermedades cardiovasculares en trabajadores con SCM de la Escuela de Bioanálisis, Sede Aragua, Universidad de Carabobo.

Enzima	Actividad (U/mgP)	Grupo A N: 24	Grupo B N: 41	OR	IC del 95%	P
ARG	<10 (Baja) ▲	1	38	0,08	0,86 – 1,57	0,4089 (NS)
ARG	≥10 (alta) ▲	23	3	2,46	1,4 – 4,4	0,0001*

▲ : para definir el límite de actividad enzimática alta o baja se consideró el promedio de la actividad del grupo sin SMet (grupo control) más o menos las desviaciones. (N): número de individuos totales en los diferentes grupos; **Grupo A:** trabajadores con SCM; **Grupo B:** trabajadores sin SCM.

Se procedió a determinar el riesgo de desarrollar enfermedades Cardiometabólicas a través de la actividad enzimática de la ARG (tabla 4), se procedió a realizar tablas de contingencia correspondientes y se calcularon las odds ratios (OR) de actividad enzimática ARG para cuantificar la asociación. Los resultados del cálculo de las OR para la actividad ARG comparando el grupo A (trabajadores con SCM) y grupo B (trabajadores sin SCM) se muestran en la tabla 4. Para definir el límite de actividad enzimática alta o baja, se tomó como criterio el promedio de la actividad enzimática ARG del grupo control (Grupo B). Con base a ese criterio y considerando que la actividad enzimática promedio de ARG en los grupos A, fueron significativamente superiores a los promedios de los del grupo B, el límite para considerar una actividad alta de dicha enzima fue mayor o igual a 10 μ M de urea/min.

Los trabajadores con y sin SCM con una actividad de ARG $\geq 10 \mu\text{M}$ de urea/min tienen un riesgo de 2,46 y 0,08 veces mayor, respectivamente, a desarrollar enfermedades cardiovasculares en comparación con los que tienen actividad $<10 \mu\text{M}$ de urea/min.

En el presente estudio demostró una fuerte relación entre la actividad de la enzima ARG y los valores de glucosa, perfil lipídico, parámetros antropométricos como IMC, PC, ICC, índice de RI y aterogénicos de Castelli, así como el riesgo que tiene los trabajadores con SCM cuando tienen actividad de la enzima ARG $\geq 10 \mu\text{M}$ de urea/min de sufrir enfermedades cardiovasculares y metabólicas. Lo que sugiere que las alteraciones en la actividad ARG puede ser indicativo de estrés metabólico. Estas alteraciones también pueden indicar que la ARG puede ser un nuevo biomarcador precoz de síndrome cardiometabólico, así como para el desarrollo de enfermedades cardiometabólicas como: diabetes mellitus y de enfermedades cardiovasculares, información importante para la detección temprana de estas patologías y para establecer estrategias que permitan prevenir sus desarrollo y complicaciones que constituyen un problema de salud pública, que cada día va en aumento su morbimortalidad.

CONCLUSIONES

1. Se identificó 24 trabajadores (36,92%) con SCM diagnosticado por los criterios de la NCEP-ATP III.
2. Los parámetros antropométricos y bioquímicos más frecuentes en trabajadores con SCM fueron PC aumentado, PA aumentada, y del HDL-c disminuidos y en los trabajadores sin SCM fueron PC aumentada y HDLc-c disminuido.
3. Los valores promedios de HDL-c se encontraron significativamente disminuidos en trabajadores con y sin SCM.
4. Las condiciones de reacciones óptimas para la determinación de la enzima arginasa fueron, concentración del sustrato, L-arginina 0,5M, volumen de suero 100 microlitros, tiempo de incubación de 5min y el volumen final de alícuota de la mezcla de reacción 20 microlitros.
5. La actividad absoluta de la enzima arginasa del grupo de trabajadores con SCM fue 15,9 veces mayor que la actividad absoluta del grupo de trabajadores sin SCM (grupo control).
6. La actividad de la enzima ARG se correlaciono positivamente con los parámetros antropométricos IMC, ICC y PC en los TCSCM.
7. Se obtuvo un incremento de la actividad de la enzima ARG, en aquellos trabajadores con SCM con hiperglicemia, obesidad, hipertensión, triglicéridos, y Tg/HDLc elevados, y HDLc disminuido.
8. Los TCSCM con una actividad de ARG ≥ 10 mM de urea/min tienen un riesgo de 2,46 veces mayor a desarrollar enfermedades cardiometabólicas.
9. La ARG puede representar un marcador precoz para el desarrollo de enfermedades cardiometabólicas.

RECOMENDACIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos se plantea algunos de los aspectos relacionados con la línea de trabajo:

1. La actividad de la enzima ARG presento variabilidad en trabajadores con y sin SCM por lo que se sugiere hacer un estudio con mayor población.
2. Se recomienda seguir con el estudio de la optimización del método en detección de la actividad de la enzima ARG en suero.
3. Se recomienda la detección de la enzima ARG conjuntamente con los parámetros bioquímicos y antropométricos utilizados para identificar el síndrome cardiometabólico.
4. Estudiar otras actividades enzimáticas relacionadas con la actividad de la enzima ARG, como es el óxido nítrico sintetasa, y los niveles de óxido nítrico en suero.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Alberti, K., Eckel, R. H., Grundy, S. M., Zimmet, P. Z., Cleeman, J. I., Donato, K. A., Fruchart, J. C., James, W. P. T., Loria, C. M. & Smith, S. C. (2009, 20 octubre). Harmonizing the Metabolic Syndrome. *Circulation*, 120(16), ISSN: 1640-1645. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.109.192644>
- Ash, D. (2004). Structure and Function of Arginases. *The Journal of Nutrition*, 134(10), 2760-2764.
- Bachorik, P. S., Wood, P. D., Albers, J. J., Steiner, P., Dempsey, M., Kuba, K., Warnick, R., & Karlsson, L. (1976). Plasma high-density lipoprotein cholesterol concentrations determined after removal of other lipoproteins by heparin/manganese precipitation or by ultracentrifugation. *Clinical chemistry*, 22(11), 1828–1834.
- Belalcazar, S., Acosta, E. J., Medina-Murillo, J. J., & Salcedo-Cifuentes, M. (2020). Biomarcadores convencionales de riesgo cardiovascular y su correlación con los índices de CASTELLI Y TG/CHDL. *Archivos de Medicina*, 20(1), 11-23.
- Beleznai, T., Feher, A., Spielvogel, D., Lansman, S. L. & Bagi, Z. (2011, marzo). Arginase 1 contributes to diminished coronary arteriolar dilation in patients with diabetes. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 300(3), H777-H783. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00831.2010>
- Berenson, G. S., Srinivasan, S. R., Webber, L. S., Nicklas, T. A., Hunter, S. M., Harsha, D. W., ... & Lawrence, M. (1991). Cardiovascular risk in early life: the Bogalusa Heart Study. New Orleans: Upjohn Company.

- Bergmeyer, H. U., Bergmeyer, J., y Grassl, M. (1974). *Methods of enzymatic análisis*, 449.
- Berthelot, N. (1959). Repertoire de chimie appliqué. *Société Chiaiquis de. Paris*, 1, 284.
- Caldwell RB, Toque HA, Narayanan SP, Caldwell RW. Arginasa: una vieja enzima con nuevos trucos. *Trends Pharmacol Sci.* 2015 Jun;36(6):395-405. doi: 10.1016/j.tips.2015.03.006. Epub 2015 Apr 27. PMID: 25930708; PMCID: PMC4461463
- Caldwell, R. W., Rodriguez, P. C., Toque, H. A., Narayanan, S. P., & Caldwell, R. B. (2018). Arginase: A Multifaceted Enzyme Important in Health and Disease. *Physiological reviews*, 98(2), 641–665. <https://doi.org/10.1152/physrev.00037.2016>
- Castelli, W., y Levitas, I. (1977). New look at lipids: Why they're not all bad. *Current Prescribing*, 6, 39.
- Condori-Huanca, G. L. (2021). Prevalencia de factores de riesgo cardiometabólico en estudiantes de Enfermería de la Universidad Católica Boliviana “San Pablo” Pucarani gestión 2019. <http://portal.amelica.org/ameli/journal/314/3142953003/>.
- Corraliza, I. M., Campo, M. L., Soler, G., & Modolell, M. (1994). Determination of arginase activity in macrophages: a micromethod. *Journal of immunological methods*, 174(1-2), 231–235. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(94\)90027-2](https://doi.org/10.1016/0022-1759(94)90027-2)

- Correa, J., Gutiérrez, C., y Lopera, M. (2013). L-arginina y cáncer: implicaciones en la regulación de la respuesta antitumoral. *Iatreia*, 27(1), 63-72.
- Creager, M. A., Lüscher, T. F., Cosentino, F. & Beckman, J. A. (2003, 23 septiembre). Diabetes and Vascular Disease. *Circulation*, 108(12), 1527-1532. <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000091257.27563.32>
- Erdely, A., Kepka-Lenhart, D., Salmen-Muniz, R., Chapman, R., Hulderman, T., Kashon, M. L., Simeonova, P. P., & Morris, S. M. (2010). Arginase activities and global arginine bioavailability in Wild-Type and APOE-Deficient mice: Responses to high fat and high cholesterol diets. *PLOS ONE*, 5(12), e15253. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015253>
- Friedewald, W., Levy, R., y Fredrickson, D. (1972). Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical chemistry*, 18(6), 499-502.
- Galindo, E. E., Martínez, C. P., Moreno, M. C., Cantero, P. A., García, C. D. J. G., & Serrano, M. D. M. (2020). Edad de menopausia, condición nutricional y componentes del síndrome metabólico en mujeres españolas. *Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria*, 40(4).
- González-Chávez, A., Simental-Mendía, L. E., & Elizondo-Argueta, S. (2011). Relación triglicéridos/colesterol-HDL elevada y resistencia a la insulina. *Cirugía y Cirujanos*, 79(2), 126-131.
- González-Mayo G., Sánchez-Tovar L., Escalona E. (2021) Síndrome metabólico en el ámbito laboral: un camino a transitar. *Comunidad y salud*, 19(2).

- González-Mayo, G. (2018). *Parámetros de estrés oxidativo y metabólicos y su relación con las actividades enzimáticas de ribonucleasas, arginasa, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y hexoquinasa en células sanguíneas de pacientes con diabetes mellitus tipo 2*. Trabajo de investigación de maestría no publicado para optar al título de Magister en Ciencias Biomédicas Mención Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Carabobo, Maracay.
- Gornall, a. G., Bardawill, c. J., & David, M. M. (1949). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *The Journal of biological chemistry*, 177(2), 751–766.
- Guzman Juan Rosas, Gonzalez Chavez Antonio, Aschner Pablo, Bastarrachea Raul, (2010). Epidemiología, Diagnóstico, Control, Prevención y Tratamiento del Síndrome Metabólico en Adultos. Consenso Latinoamericano de la Asociación Latinoamericana de Diabetes (ALAD), VOL. XVIII-No 1, <https://www.revistaalad.com/>. <https://www.revistaalad.com/pdfs/100125-44.pdf>
- Hannon, B. A., Thompson, S. V., Edwards, C. G., Skinner, S. K., Niemi, G. M., Burd, N. A., ... & Khan, N. A. (2019). Dietary fiber is independently related to blood triglycerides among adults with overweight and obesity. *Current developments in nutrition*, 3(2), nzy094.
- Hein, T. W., Zhang, C., Wang, W., Chang, C. I., Thengchaisri, N. & Kuo, L. (2003, 16 octubre). Ischemia-reperfusion selectively impairs nitric oxide-mediated dilation in coronary arterioles: counteracting role of arginase. *The FASEB Journal*, 17(15), 2328-2330. <https://doi.org/10.1096/fj.03-0115fje>
- Henry, J., (1997). *Diagnóstico y Tratamiento Clínico*. 9ª edición. España: Editorial Salvat.

- Hernández Santana, Norma Angélica (2011), “*Evaluación de la actividad de la enzima arginasa durante la preeclampsia*”. Trabajo de grado para obtener el título de maestría en ciencias en farmacología. Instituto Politécnico Nacional Escuela Superior de Medicina, Mexico D.F.
- Jung, C., Figulla, H. R., Lichtenauer, M., Franz, M., & Pernow, J. (2014). Increased levels of circulating arginase I in overweight compared to normal weight adolescents. *Pediatric diabetes*, 15(1), 51–56. <https://doi.org/10.1111/pedi.12054>
- Kashyap, S. R., Lara, A., Zhang, R., Park, Y. M., & DeFronzo, R. A. (2008). Insulin reduces plasma arginase activity in type 2 diabetic patients. *Diabetes care*, 31(1), 134–139. <https://doi.org/10.2337/dc07-1198>
- Khan, S. H., Khan, F. A., Ijaz, A., Sattar, A., Dilawar, M., & Hashim, R. (2008). Spectrum of lipid and lipoprotein indices in human subjects with insulin resistance syndrome. *Journal of Ayub Medical College, Abbottabad : JAMC*, 20(3), 17–22.
- Kim, O. Y., Lee, S. M., Chung, J. H., Joo, H. J., Moon, J., & Shin, M. J. (2012). Arginase I and the very low-density lipoprotein receptor are associated with phenotypic biomarkers for obesity. *Nutrition*, 28(6), 635-639. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2011>
- Konarska, L., & Tomaszewski, L. (1986). A simple quantitative micromethod of arginase assay in blood spots dried on filter paper. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 154(1), 7–17. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(86\)90083-5](https://doi.org/10.1016/0009-8981(86)90083-5)

- Langle, Y. V., Sandes, E. O., Belgorosky, D., Balarino, N. P., Prack Mc Cormick, B. P., Marino, L., ... & Eiján, A. M. (2014). La expresión de S100A9, vinculada con el óxido nítrico, es un marcador de mal pronóstico en pacientes con cáncer de vejiga, siendo su inhibición un posible blanco terapéutico.
- Loeb, W. F. & Stuhlman, R. A. (1969, 1 febrero). A Colorimetric Method for the Determination of Serum Arginase Activity. *Clinical Chemistry*, 15(2), 162-169. <https://doi.org/10.1093/clinchem/15.2.162>
- Ma, W. Y., Yang, C. Y., Shih, S. R., Hsieh, H. J., Hung, C. S., Chiu, F. C., ... & Li, H. Y. (2013). Measurement of waist circumference: midabdominal or iliac crest?. *Diabetes care*, 36(6), 1660-1666. DOI: doi.org/10.2337/dc12-145
- Mahdi, A., Pernow, J., & Kövamees, O. (2019). Arginase inhibition improves endothelial function in an age-dependent manner in healthy elderly humans. *Rejuvenation research*, 22(5), 385-389.
- Martín-González, M. C., Torres-Vega, A. M., González-Reimers, E., Quintero-Platt, G., Fernández-Rodríguez, C., Alvisa-Negrín, J., Hawari-Meilud, A. & Santolaria-Fernández, F. (2017). Síndrome metabólico y riesgo cardiovascular en la población diabética de El Hierro, Islas Canarias. *Nutrición Hospitalaria*, 34(3), 593. <https://doi.org/10.20960/nh.256>
- McLaughlin, T., Reaven, G., Abbasi, F., Lamendola, C., Saad, M., Waters, D., y cols. (2005). Is there a simple way to identify insulin-resistant individuals at increased risk of cardiovascular disease?. *The American journal of cardiology*, 96(3), 399-404.

- Moon, J., Ju, H., Cho, Y., & Shin, M. J. (2014). Arginase inhibition ameliorates hepatic metabolic abnormalities in obese mice. *PLOS ONE*, 9(7), e103048. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103048>
- Ogino, K., Murakami, I., Wang, D. H., Tsukiyama, Y., Takahashi, H., Kubo, M., Sakano, N., Setiawan, H., Bando, M. & Ohmoto, Y. (2013, noviembre). Evaluation of serum arginase I as an oxidative stress biomarker in a healthy Japanese population using a newly established ELISA. *Clinical Biochemistry*, 46(16-17), 1717-1722. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.08.012>
- Ogino, K., Takahashi, N., Takigawa, T., Obase, Y., & Wang, D. H. (2011). Association of serum arginase I with oxidative stress in a healthy population. *Free radical research*, 45(2), 147–155. <https://doi.org/10.3109/10715762.2010.520318>
- Olamoyegun, M. A., Oluyombo, R., & Asaolu, S. O. (2016). Evaluation of dyslipidemia, lipid ratios, and atherogenic index as cardiovascular risk factors among semi-urban dwellers in Nigeria. *Annals of African Medicine*, 15(4), 194. <https://doi.org/10.4103/1596-3519.194280>
- Ortiz-Rodríguez, B., De León Fierro, L. G., & Legleu, C. E. C. (2015). [ANTHROPOMETRIC INDICES AND ITS RELATIONSHIP WITH BIOCHEMICAL MARKERS IN WOMEN]. *PubMed*, 32(6), 2547-2550. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.32.6.9743>
- Pérez Acosta, J. C., González Garrido, J. A., Garrido Llanos, S., Trejo Sánchez, B. E., García Sánchez, J. R. & Olivare Corichi, I. M. (2019, 9 septiembre). Evaluación de actividad de la enzima arginasa en pacientes con diabetes mellitus en Veracruz, México. *REVISTA BIOMÉDICA*, 30(3). <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v30i3.701>

- Pérez-Rodríguez, G., (2010). Actividad de arginasa como un marcador de cáncer de mama en pacientes mexicanos. Tesis de maestría no publicada para optar al título de Magíster en Ciencias de la Salud, Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México.
- Pernow, J., & Jung, C. (2013). Arginase as a potential target in the treatment of cardiovascular disease: reversal of arginine steal?. *Cardiovascular research*, 98(3), 334–343. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvt036>
- Quiroz Cortez, María del Carmen (2014), *Prevalencia de síndrome metabólico en trabajadores de la salud del Hospital Regional Xalapa “Dr. Luis f. Nachon”* Trabajo de grado presentado para obtener el título: especialista en medicina integrada, Universidad Veracruzana, Veracruz, México.
- Ramos G., Reidtler F. (2022). *Actividad de la enzima arginasa en trabajadores con y sin sobrepeso de una operadora turística y una empresa química, maracay, estado Aragua*. Universidad de Carabobo, Aragua, Venezuela.
- Ray, S., Talukdar, A., Sonthalia, N., Saha, M., Kundu, S., Khanra, D., Guha, S., Basu, A. K., Mukherjee, A., Ray, D., & Ganguly, S. (2015). Serum lipoprotein ratios as markers of insulin resistance: a study among non-diabetic acute coronary syndrome patients with impaired fasting glucose. *The Indian journal of medical research*, 141(1), 62–67. <https://doi.org/10.4103/0971-5916.154504>
- Reid, K. M., Tsung, A., Kaizu, T., Jeyabalan, G., Ikeda, A., Shao, L., Wu, G., Murase, N., & Geller, D. A. (2007). Liver I/R injury is improved by the arginase inhibitor, N(omega)-hydroxy-nor-L-arginine (nor-NOHA). *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*, 292(2), G512–G517. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00227.2006>

Richerich, R., y Colombo, S. (1983). Química clínica. *Barcelona: Salvat Editores SA*, 328.

Rodríguez, P. G. (2012, 15 marzo). Actividad de arginasa como un marcador de cáncer de mama en pacientes mexicanos. <https://tesis.ipn.mx/handle/123456789/9173?show=full>+

Romero, M. J., Platt, D. H., Tawfik, H. E., Labazi, M., El-Remessy, A. B., Bartoli, M., Caldwell, R. B. & Caldwell, R. W. (2008, 4 enero). Diabetes-induced Coronary Vascular Dysfunction Involves Increased Arginase Activity. *Circulation Research*, 102(1), 95-102. <https://doi.org/10.1161/circresaha.107.155028>

Salamanca Postigo Sara, (2016). *Papel de la arginasa en la patología cardiovascular*. (Tesis de Grado) UNIVERSIDAD COMPLUTENSE. Documento en línea: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/SARA%20SALAMANCA%20POSTIGO.pdf>

Sampieri, R., Collado, C., Lucio, P., y Pérez, M. (2014). *Metodología de la investigación*. 6ta Edición. México: Mcgraw-hill.

Shatanawi, A., Romero, M. J., Iddings, J. A., Chandra, S., Umapathy, N. S., Verin, A. D., Caldwell, R. B., & Caldwell, R. W. (2011). Angiotensin II-induced vascular endothelial dysfunction through RhoA/Rho kinase/p38 mitogen-activated protein kinase/arginase pathway. *American journal of physiology. Cell physiology*, 300(5), C1181–C1192. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00328.2010>

Shemyakin, A., Kövamees, O., Rafnsson, A., Böhm, F., Svenarud, P., Settergren, M., Jung, C., & Pernow, J. (2012). Arginase inhibition improves endothelial

- function in patients with coronary artery disease and type 2 diabetes mellitus. *Circulation*, 126(25), 2943-2950. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.112.140335>
- Tenenbaum, A., Klempfner, R., & Fisman, E. Z. (2014). Hypertriglyceridemia: a too long unfairly neglected major cardiovascular risk factor. *Cardiovascular diabetology*, 13(1), 1-10.
- Ulate-Montero, Guido, & Fernández-Ramírez, Aileen. (2001). Relaciones del perfil lipídico con variables dietéticas, antropométricas, bioquímicas, y otros factores de riesgo cardiovascular en estudiantes universitarios. *Acta Médica Costarricense*, 43 (2), 70-76. Recuperado el 21 de octubre de 2023, de http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-60022001000200006&lng=en&tlng=es.
- Von Bibra, H., Saha, S., Hapfelmeier, A., Müller, G., & Schwarz, P. (2017). Impact of the Triglyceride/High-Density lipoprotein cholesterol ratio and the Hypertriglyceremic-Waist phenotype to predict the metabolic syndrome and insulin resistance. *Hormone and Metabolic Research*, 49(07), 542-549. <https://doi.org/10.1055/s-0043-107782>
- Yao, L., Chandra, S., Toque, H. A., Bhatta, A., Rojas, M., Caldwell, R. B., & Caldwell, R. W. (2013). Prevention of diabetes-induced arginase activation and vascular dysfunction by Rho kinase (ROCK) knockout. *Cardiovascular research*, 97(3), 509–519. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvs371>

ANEXOS

ANEXO A

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo _____ C.I.: _____
Nacionalidad _____ Estado Civil _____
Domiciliado en _____,
mayor de edad, en uso pleno de mis facultades mentales, sin que nadie me
coaccione de forma alguna, declaro:

1. Que he sido informado de manera clara y sencilla sobre el proyecto de investigación titulado “Actividad de la enzima arginasa en suero, como marcador de riesgo para desarrollar síndrome cardiometabólico en los trabajadores de la Escuela de Bioanálisis, Sede Aragua” coordinado por la Profesora Gregoria González Mayo
2. Que mi participación en dicho proyecto consiste en donar de manera voluntaria una muestra de sangre de 10 mL, la cual se me extraerá mediante punción venosa, previa asepsia de la región anterior del antebrazo por una persona capacitada y autorizada por la referida institución y aportar toda la información necesaria requerida por los investigadores.
3. Que el equipo de investigadores me ha garantizado confidencialidad relacionada tanto a mi identidad como de cualquier información relativa a mi persona a la que tengan acceso por concepto de mi participación en el proyecto antes mencionado
4. Que tengo derecho de conocer los resultados de mi examen y que yo no cubriré ningún gasto relacionado con el proyecto,
5. Que estoy de acuerdo en el USO, para fines académicos, de los resultados obtenidos en el presente estudio,
6. Que mi participación en dicho estudio no implica riesgo ni inconveniente alguno para mi salud,
7. Que cualquier pregunta que yo tenga en relación con este estudio, me será respondida oportunamente por parte del equipo de investigadores antes mencionado con quienes me puedo comunicar por el teléfono 0424- 3380837 con la Lcda, Gregoria González Mayo.

8. Que bajo ningún concepto se me ha ofrecido ni pretendo recibir algún beneficio de tipo económico producto de los hallazgos que puedan producirse en el referido trabajo de investigación.
9. Que los resultados de las pruebas me serán entregados oportunamente,
10. Estoy conforme con la información que se me ha dado y ofrezco la autorización voluntaria para que el examen sea practicado reservándome el derecho de revocar esta autorización, sin que ello genere ninguna consecuencia.

DECLARACION DEL VOLUNTARIADO

Luego de haber leído, comprendido y recibido las respuestas a mis preguntas con respecto a este formato de consentimiento y por cuanto mi participación en este estudio es totalmente voluntaria acuerdo:

- a) Aceptar las condiciones estipuladas en el mismo y a la vez autorizar al equipo de investigadores de la Universidad de Carabobo (Sede Aragua), realizar el referido estudio en las muestras de sangre que acepto donar a los fines indicados anteriormente,
- b) Reservarme el derecho de revocar esta autorización y donación en cualquier momento sin que ello conlleve algún tipo de consecuencia negativa para mi persona,

Firma voluntario: _____	Firma Investigador: _____
Nombres: _____	Nombres: _____
C,I: _____	C,I: _____
Lugar: _____	Lugar: _____
Fecha: _____	Fecha: _____

Firma testigo: _____	Firma testigo: _____
Nombres: _____	Nombres: _____
C,I: _____	C,I: _____
Lugar: _____	Lugar: _____
Fecha: _____	Fecha: _____

DECLARACION DEL INVESTIGADOR

Luego de haber explicado detalladamente al voluntario la naturaleza del protocolo mencionado CERTIFICO mediante la presente que, a mi leal saber, el sujeto que firma este formulario de consentimiento comprende la naturaleza, requerimientos, riesgos y beneficios de la participación en estudio, Ningún problema de índole médico, de idioma o de institución han impedido al sujeto tener una clara comprensión de su compromiso con este estudio

ANEXO B



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
"PROFA. OMAIRA FIGUEROA"
SEDE ARAGUA



ENCUESTA

Datos Personales:

- Nombre y apellido: _____
- C.I.: _____
- Género: F: ____ M: ____
- Edad: _____
- Teléfono: _____
- Dirección: _____

Datos Clínicos:

- Presión Arterial Sistólica: _____ mmHg.
- Presión Arterial Diastólica: _____ mmHg
- Cintura: _____ cm. Cadera: _____ cm. ICC: _____
- Peso: _____ Kg. Estatura: _____ M. IMC: _____ kg/m²

Encuesta:

- ¿Usted ingiere algún medicamento? Sí ____ NO ____
- ¿Cuál?: _____ ¿Por qué? _____

- Realiza actividades deportivas o físicas? Sí ____ NO ____
- ¿Consume alcohol?: Sí ____ NO ____
- ¿Usted fuma? Sí ____ NO ____
- ¿Cuál es su actividad laboral actual? _____
- ¿Qué grupo étnico lo describe mejor?
Blanco _____ Asiático _____ Hispano o latino _____
Negro o afroamericano _____

DE SER MUJER:

- ¿Ha tenido hijos? SÍ ____ NO ____
 - ¿Cuántos? _____
 - ¿Algún hijo al nacer peso más de 4kg? SÍ ____ NO ____
 - ¿Sufre de ovarios poliquístico? SÍ ____ NO ____
 - ¿Tiene menopausia? SÍ ____ NO ____
- De tenerla, ¿desde qué edad? _____

Sufre o ha sufrido de:

ENFERMEDAD	SÍ	NO
Diabetes		
Hipertensión		
Dislipidemia		
Obesidad		
Enfermedad cardiovascular		
Amigdalitis		
Hepatitis		
Enfermedad periodontal		
COVID-19		

Existe en su familia, antecedentes de:

ENFERMEDAD	SÍ	NO	PARENTESCO
Diabetes tipo 1			
Diabetes tipo 2			
Hipertensión arterial			
Enfermedad cardiovascular			
Alteración Lipídica			
Otros:			

- ¿Usted ha sido vacunado? SÍ ____ NO ____
- ¿Cuáles vacunas posee? _____