

**UNIVERSIDAD DE CHILE**

**FACULTAD DE MEDICINA**

ESCUELA DE POSTGRADO



**“Queratosis Actínicas ,Hidroperóxidos Plasmáticos y Alimentación”**

Paula Andrea Klein Shaoul

**TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE  
MAGISTER EN CIENCIAS MEDICAS, MENCIÓN NUTRICIÓN**

Director de Tesis: Prof. Dr. Diego Garcia Diaz

**2017**

## Agradecimientos

Quiero Agradecer en primer lugar a Clínica Klein por auspiciar esta tesis, enviándome pacientes y facilitando las instalaciones para la realización de este tesis.

No puedo dejar de agradecer a todos quienes me apoyaron en este proceso , tanto profesores, y familiares, en especial mi psicopedagoga Elizabeth Zimmerman, por corregir los primeros escritos, como al director de la tesis Diego García, y al fallecido profesor Héctor Araya.

En el proceso de tesis fue muy importante el apoyo incondicional de mi marido Philippe Schlesinger.

Por ultimo no puedo dejar de agradecer al creador del mundo , por darme la oportunidad de realizar esta tesis.

**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE MEDICINA  
ESCUELA DE POSTGRADO**

**INFORME DE APROBACION TESIS DE MAGISTER**

**Se informa a la Comisión de Grados Académicos de la Facultad de Medicina, que la Tesis de Magister presentada por la candidata**

**Paula Andrea Klein Shaoul**

**ha sido aprobada por la Comisión Informante de Tesis como requisito para optar al Grado de Magister en Ciencias Médicas, mención Nutrición en el Examen de Defensa de Tesis rendido el día 4 de Julio de 2017.**

**Prof. Dr. Diego Garcia  
Director de Tesis**

**COMISION INFORMANTE DE TESIS**

**Prof.Dra.Patricia Bustos Muñoz    Prof.Dr.Faustino Alonso Traviesa**

**Prof. Dra. Karen Basfi-fer Obregón  
\_Presidente Comisión**

## Índice

Resumen	2
Introducción	3
Marco teórico	4-7
Hipótesis	8
Objetivo general	8
Objetivos Especifico	8
Materiales y Métodos	9-12
Resultados	13-20
Discusión	21-23
Conclusiones	24
Bibliografía	25-28

**Resumen :**

**Introducción:** Las Queratosis Actínicas (QA), son un carcinoma cutáneo *in situ*. Su patogenia se ha asociado a exposición a la radiación solar. Existe evidencia de la capacidad foto protectora de algunos alimentos y nutrientes, así como también de antioxidantes plasmáticos con QA. Pero evidencia que relacione estrés oxidativo (EO), QA y alimentación, es escasa.

**Objetivo:** Relacionar la presencia de QA, marcadores de EO y consumo de alimentos ricos en antioxidantes en humanos.

**Materiales y métodos:** Estudio caso y control que incluyó 15 casos y 8 controles, de edad entre 30-80 años. El diagnóstico de QA fue realizado por un especialista (Clínica Klein). Se realizó anamnesis, encuesta de frecuencia de consumo (EFC, abierta no modificada). Se recolectó una muestra de sangre para tests de EO (d-ROMs y BAP test). La ECF se analizó por porciones utilizando tablas chilenas y gramos promedios. La composición de alimentos se analizó con el software FOODPROCESOR, versión 10.10. Datos fueron analizados con estadística no paramétrica.

**Resultados:** Se observaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los grupos en BAP test (mayor en controles), y un menor consumo en casos de verduras, equivalentes activos de vitamina A, y aceites. Se detectaron correlaciones diferenciales entre consumo de algunos alimentos y tests de EO entre los grupos. Se observaron interacciones significativas entre la presencia de enfermedad, hidroperóxidos plasmáticos (d-Roms test) y consumo de vitamina C y frutas ( $p < 0,05$ ).

**Conclusiones:** Existe una relación significativa entre capacidad antioxidante (o nivel de estrés oxidativo) en plasma, consumo de alimentos o compuestos antioxidantes, y la presencia de QA.

## **Introducción**

En los últimos años hemos sido testigos del cambio epidemiológico, lo cual ha llevado a nuevos entendimientos de los procesos de enfermedad. Con respecto al cáncer y nutrición, se ha investigado cómo influye la alimentación en su historia natural.

Dentro de los cánceres, el de piel es el más frecuente. Clásicamente se ha relacionado con la exposición solar, reconociendo mecanismos mutagénicos directos de la radiación (UVB), o a través de la formación de radicales libres (UVA). Con respecto a estos últimos, se han descubierto elementos en los alimentos que mitigan el daño por los radicales libres. Específicamente en piel, se han realizado estudios que miden la capacidad de algunos suplementos de aumentar la dosis eritema mínimo, medida de daño agudo por exposición solar, es decir, a través de compuestos de los alimentos se puede mitigar el daño agudo producido por la radiación solar; la mayoría de los mecanismos de acción conocidos de estos compuestos es su acción antioxidante. A pesar de estos descubrimientos, la investigación es escasa con respecto a la exposición solar crónica y su influencia en el equilibrio oxidativo del organismo.

Considerando lo anterior la presente tesis, busca como objetivo relacionar la presencia de hidroperóxidos plasmáticos y poder reductor del plasma, como marcadores de estrés oxidativo (EO), con el consumo de alimentos ricos en antioxidantes y la presencia de Queratosis Actínica (QA).

## 1- Marco Teórico

### *Enfermedades crónicas y radicales libres*

La población mundial ha ido aumentando la edad de sobrevivencia. Este hecho ha forzado un cambio importante en las causas de muerte, cobrando mayor importancia enfermedades crónicas no transmisibles, como por ejemplo el cáncer<sup>1-2</sup>. Existen hipótesis que postulan que, en parte, estas enfermedades se originarían por un desbalance entre la producción normal de radicales libres en los procesos celulares, y en la capacidad del organismo de neutralizar dichas moléculas<sup>3</sup>. Al aumentar estas últimas, más allá de la capacidad de neutralizarlas, se produce un estado de estrés oxidativo que ha sido identificado como un factor etiológico importante de estas enfermedades<sup>3</sup>.

Dentro de los cánceres, dada las características y funciones de la piel, el que afecta a dicho órgano es de los más frecuentes<sup>4</sup>. Por otro lado, en el estudio *National Health and Nutrition Examination Survey Epidemiologic Follow-up* (NHANES)<sup>5</sup>, fue determinado que habría una asociación entre daño actínico, enfermedades cardiovasculares, cáncer y todas las causas de mortalidad en individuos caucásicos. Las Queratosis Actínicas(QA) comprenden un componente importante de daño actínico moderado y severo, es decir, daño por exposición crónica a la radiación solar<sup>6</sup>.

### *Cáncer de piel no Melanoma y Queratosis Actínicas*

Como se mencionó anteriormente el cáncer de piel es de los más frecuentes a nivel mundial, llegando a superar en número la sumatoria de todo el resto de los cánceres<sup>1</sup>. El cáncer cutáneo se clasifica en: melanoma y no melanoma. Dentro de los no melanoma, los más frecuentes son el carcinoma baso celular y espinocelular. En Australia la incidencia de carcinoma espinocelular, puede llegar a un 40% de la población mayor de 40 años<sup>7</sup>. En nuestro país el cáncer de piel no melanoma es el tercero del orden de incidencia en hombres y segundo en mujeres<sup>8</sup>.

Las Queratosis Actínicas(QA) se pueden encontrar clasificadas como lesión precancerosa o como carcinoma *in situ*. Corresponden a lesiones de la piel,

histológicamente caracterizadas por la pérdida del orden de maduración de los queratinocitos, un número aumentado de mitosis, displasias o queratinocitos necróticos en la epidermis<sup>6</sup>. Se ha observado que su aparición es más frecuente en pacientes con fototipos bajos. Esto es: fototipo I y II, correspondiendo el I, a aquellos sujetos que al exponerse al sol, siempre producen eritema y no se broncean; y el II, a aquellos, que producen eritema pero generalmente se broncean.

La evolución de las Queratosis Actínicas(QA) puede tomar tres rutas principales: remisión espontánea, lo que ocurre rara vez; mantenerse estable o progresar a un carcinoma espino celular invasivo. La progresión de una sola Queratosis Actínica(QA) hacia un carcinoma escamoso invasivo fluctúa desde 0,25% a un 20% por año<sup>6-7</sup>. Como se desconocen los mecanismos precisos de progresión hacia la invasión, no es posible saber cuál QA progresará a carcinoma invasivo, motivo por el cual, toda lesión de este tipo diagnosticada es tratada por diferentes métodos, dependiendo de las características de la lesión y del paciente. Los tratamientos están enfocados en destruir el tejido alterado, esto cuando son lesiones únicas o en áreas pequeñas, y se logra con tratamientos localizados. Cuando son múltiples se puede realizar tratamiento del área afectada con quimioterapia tópica, inmunoterapia o terapia fotodinámica, técnicas que buscan destruir también tejido alterado del áreas aledañas a las lesiones, que puede no ser visible<sup>7</sup>. En cuanto a la prevención de lesiones en otras zonas, la indicación tradicional es la foto protección, cuya función es disminuir nuevo daño por exposición a radiación solar <sup>34</sup>.

#### *Alimentación, mitigación del daño oxidativo y Queratosis Actínica*

Por otro lado, diversos estudios clínicos han descrito las capacidades foto protectoras de ciertos alimentos y nutrientes, como la vitamina C asociada a vitamina E, y la capacidad de vitamina A o sus derivados, para disminuir el daño solar<sup>9-11</sup>. En diversos estudios, se ha intentado relacionar la capacidad antioxidante con patrones alimentarios, destacando asociaciones con índice glicémico, ácidos grasos saturados, mono y poliinsaturados, y el consumo de frutas y verduras, nueces, cacao, té verde, aceite de oliva y vino tinto, entre otros<sup>12-13</sup>.

En relación a Queratosis Actínica(QA) y estrés oxidativo(EO), Vural y cols (1999)<sup>14</sup> determinaron el nivel de antioxidantes en la sangre de pacientes con esta condición y/o Carcinoma Basocelular. Los resultados arrojaron diferencias significativas en relación a ácido ascórbico, alfa tocoferol, presencia de grupos tioles totales, ceruloplasmina en plasma y glutatión en glóbulos rojos. De este estudio se observa que un número considerable de los antioxidantes presentes en forma significativamente menor, en pacientes con patología, son de origen dietario.

Con respecto a Queratosis Actínica(QA) y alimentación, en el año 2009 Hughes y cols<sup>12</sup> realizaron un estudio de cohorte en Australia donde evaluaron patrones dietarios en personas que padecían esta condición, logrando concluir que la aparición de éstas disminuyó en pacientes de los cuartiles de mayor ingesta de pescados grasos y vinos<sup>12</sup>.

Por otra parte, se han realizado estudios basados en la posibilidad de relacionar una dieta rica en antioxidantes como factor protector contra diferentes tipos de cáncer y específicamente carcinomas cutaneos<sup>3,7,9-15</sup>. A continuación se muestra un modelo conceptual del efecto de la alimentación sobre posible desarrollo de las QA (Figura 1).

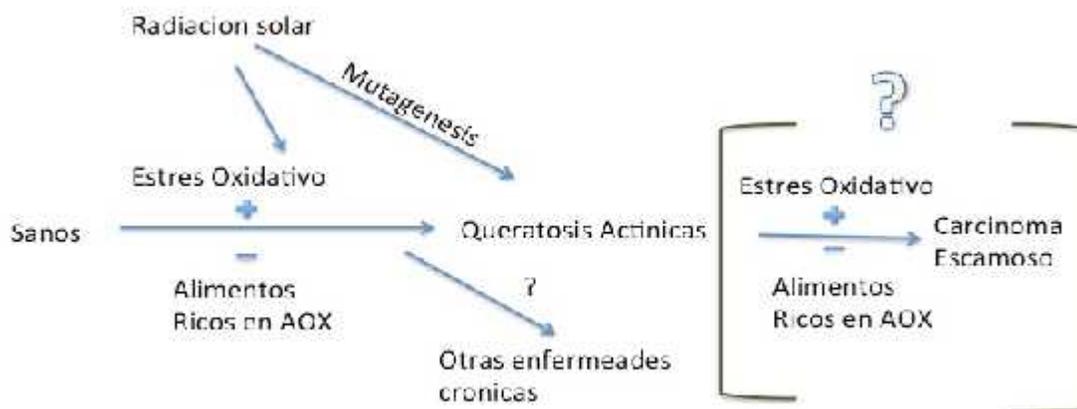


Figura 1: Modelo conceptual de interacción entre elementos en la patogénesis de Queratosis Actínica y el posible rol de alimentos ricos en antioxidantes, entre paréntesis se extiende el modelo a progresión hacia carcinoma escamoso, basado en datos de la literatura <sup>3,6,7,9-14</sup> . AOX: antioxidantes

### *Determinación de los niveles de estrés oxidativo*

Los radicales libres son moléculas altamente reactivas de vida media muy corta. Esto hace difícil su medición, por lo cual, se han desarrollado diferentes métodos para cuantificarlos<sup>16</sup>. De manera resumida, los métodos directos de medición de estas moléculas son complejos, caros, y difícilmente aplicables a la clínica. Es por esto que los *test* aplicados en los estudios clínicos son principalmente de naturaleza indirecta<sup>16,17</sup>, y se dividen en aquellos que buscan medir indirectamente moléculas reactivas de oxígeno, buscando la reactividad de estas moléculas, por ejemplo los hidroperóxidos séricos con el ión férrico<sup>17-20</sup>, otros buscan moléculas ya oxidadas como por ejemplo malondialdehído<sup>16</sup>; y las pruebas que buscan medir la capacidad antioxidante<sup>16,20</sup>. De estos métodos algunos de los más fáciles de utilizar y de menor costo son el d-ROMs (reactive oxygen metabolites test) y el BAP test (biological antioxidant potential), que detectan indirectamente hidroperóxidos plasmáticos y poder antioxidante, respectivamente<sup>18,20</sup>.

Hasta el momento, no se han realizado estudios donde se analice simultáneamente variables de estrés oxidativo y alimentación, en pacientes portadores de Queratosis Actínica(QA). Debido a lo anterior, en el presente trabajo se pretende evaluar los niveles de estrés oxidativo plasmático de pacientes con QA y relacionar este dato con el consumo de alimentos ricos en antioxidantes, en comparación con un grupo de sujetos sanos.

## **2- Hipótesis**

Pacientes con diagnóstico de Queratosis Actínica presentan niveles aumentados de estrés oxidativo, lo que se asocia con un menor consumo de alimentos ricos en antioxidantes, comparados con sujetos sanos.

## **3- Objetivo general**

Relacionar la presencia de hidroperóxidos plasmáticos y poder reductor del plasma, como marcadores de estrés oxidativo, con el consumo de alimentos ricos en antioxidantes y la presencia de Queratosis Actínica.

## **4- Objetivos específicos**

1. Determinar los niveles de hidroperóxidos plasmáticos y la capacidad antioxidante del plasma en pacientes y controles.
2. Evaluar el tipo y frecuencia de consumo de grupos de alimentos con énfasis en aquellos ricos en antioxidantes, en estos sujetos.
3. Asociar los niveles de capacidad antioxidante del plasma con el consumo de alimentos ricos en antioxidante y la presencia de Queratosis Actínica.

## **5- Objetivos cumplidos**

No se logró alcanzar el número de casos definido estadísticamente al comienzo del proceso de Tesis. No obstante, con la muestra actual fueron cumplidos cabalmente los objetivos planteados.

## **Materiales y métodos**

Se realizó un estudio observacional, caso-control, con un tamaño muestra de 23 sujetos, de los cuales 15 fueron casos y 8 controles.

### *Pacientes y controles*

El diagnóstico de los casos de Queratosis Actínica fue efectuado por un dermatólogo con experiencia (Dr. Rodolfo Klein, Klein y Klein dermatólogos y Clínica Santa María La Dehesa). Se consideraron los siguientes criterios de exclusión: Ingesta habitual de suplementos alimenticios, historia de cáncer, diabetes, enfermedades inflamatorias y embarazo.

Los controles fueron reclutados entre pacientes de las mismas clínicas que consultaron por otras causas, por considerarse que provendrían de una población con similares características, con las siguientes condiciones: mayores de 30 años, con foto tipo de piel tipo I o II, y que cumplieran los criterios antes descritos. El consentimiento informado y el procedimiento de la presente Tesis fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile.

### *Diagnóstico*

El diagnóstico en términos generales se realizó tras un análisis clínico. En estudios anteriores, en los cuales se ha efectuado confirmación histopatológica, se observó que el diagnóstico clínico presenta una precisión diagnóstica de 94%<sup>21</sup>. Por lo tanto, para el presente trabajo el diagnóstico fue llevado a cabo a través de la observación de lesiones hiperqueratósicas discretas, que se manifiestan como escamas o costras en la superficie de la piel, de forma oval o redondeada, aisladas o discretamente diseminadas, en zonas foto expuestas. La base puede ser clara u oscura, de color tostado, rosado, rojo, una combinación de éstos o también del mismo color que la piel. La escama o costra es dura, seca y áspera, y se detecta más fácilmente al tacto que a la vista.

### *Cálculo de tamaño muestral*

El tamaño de muestra se calculó considerando intervalos normales y desviación estándar del test d-ROMS<sup>17-19,22</sup>, que se empleó para evaluar los estados oxidativos. Este test expresa sus resultados en unidades CARRS (U CARRS), donde una unidad es equivalente a 0,08 mg/dL en una solución acuosa de peróxido de hidrógeno. El rango normal del test va de 251 a 300 U CARRS, con una desviación estándar promedio de 49 U CARRS. En base a estos datos y utilizando un programa computacional (Nquery advisor 4.0, Cork, Ireland), se calculó un tamaño de muestra de 23 casos. Como se indicó previamente, este número de casos no fue posible de ser alcanzado, debido a problemas para reclutar individuos en el periodo de tiempo previamente considerado y por limitaciones presupuestarias.

### *Anamnesis, encuesta de frecuencia de consumo y toma de muestras*

Previo a la toma de muestras se realizó anamnesis, donde se recolectaron datos relevantes para la investigación, tales como: edad, antecedentes médicos, tratamiento farmacológico, tipo de actividad física y ocupación. En actividad física se clasifico según cumplían o no las recomendaciones de actividad física de la OMS: más de 150 minutos de actividad moderada o 75 minutos de actividad vigorosa, o mezcla de ambas, a la semana<sup>23</sup>.

Además, se realizó una encuesta de frecuencia de consumo(EFC)<sup>26</sup> abierta, no modificada, de manera presencial, en la cual en primera instancia se pregunto de manera abierta por los alimentos consumidos en el ultimo mes, clasificadas por grupos, y luego se realizo énfasis en mejorar la cuantificación y posible ingesta de alimentos ricos en antioxidantes, como por ejemplo salsa de tomate, frutos secos, vino tinto. Luego la información recolectada se analizó en dos etapas: primero se cuantificaron las ingestas promedios semanales por porciones, para lo cual se utilizaron tablas Chilenas, y gramos promedio diarios. Luego se tabularon por grupos de alimentos de acuerdo a sus características nutricionales (cereales, legumbres, verduras, frutas, lácteos, cárnicos, alimentos ricos en grasas, alimentos ricos en azucares)<sup>26</sup>, Se evaluaron además por separado 3 alimentos que la evidencia indica que podrían influir en las pruebas de estrés oxidativo: vino tinto, pescados y aceites

(no se distinguió entre tipo de aceite debido al pequeño tamaño muestra)<sup>27</sup> . Seguido, se ingresaron los datos al software FOODPROCESOR, versión 10.10 (ESHA Resecar, Salem, EE.UU), obteniéndose así la composición de los alimentos. Para controlar los posibles sesgos por la estacionalidad, dentro de factibilidad técnica, las encuestas sobre casos y controles se realizaron en épocas similares.

Posteriormente, se recolectó una muestra de sangre, a través de extracción capilar de sangre de la mano no hábil, utilizando un kit de Innovatics Laboratories, Inc. (Philadelphia, EEUU), por personal cualificado (Klein y Klein Dermatólogos, Santiago, Chile). Brevemente, las muestras fueron centrifugadas a 6.000 rpm a temperatura ambiente por 90 segundos, para separar plasma de la fracción celular, y fueron procesadas inmediatamente para la determinación de las variables relacionadas con estrés oxidativo(EO), como se detalla a continuación.

#### *Determinación de estrés oxidativo plasmático.*

El nivel de EO fue determinado mediante 2 métodos:

1. La determinación de hidroperóxidos plasmáticos se realizó mediante el d-ROMs test (Innovatics Laboratories, Philadelphia, EEUU). Esta medición determina estrés oxidativo de una manera indirecta. Está basada en la premisa química de que la formación de hidroperóxidos se produce en presencia de especies reactivas de oxígeno. Estas, al ser expuestas a un cromógeno (N,N-diethylparaphenylen-diamine) producen, a través de una reacción cinética, oxidación y un compuesto amino coloreado que puede ser determinado en un espectrofotómetro, con un *peak* de absorción a los 505 nm. El color es directamente proporcional a la cantidad de concentración de hidroperóxidos y, por tanto, al nivel de estrés oxidativo<sup>17,19</sup>. El procedimiento se realiza, mezclando 10 µL de plasma y mezclando con el cromógeno, insertando luego en el espectrofotómetro e incubado por 5 minutos.

2. El potencial antioxidante biológico (BAP test, Innovatics Laboratories, Philadelphia, EEUU) se determinó en plasma extraído en la misma muestra, y procesado en un espectrofotómetro (FRAS 4 Evolve, Innovatics Laboratories, Philadelphia, EEUU). Este test consiste en medir el potencial reductor del plasma, para lo cual se disuelve el plasma a evaluar en una solución coloreada obtenida de la mezcla de Ion férrico con un derivado del tiocianato, la cual se incubaba por 5 minutos a 37 °C y se mide la decoloración de la muestra en un espectrofotómetro a 505 nm. Esta decoloración es directamente proporcional a la capacidad reductora del plasma<sup>20,25</sup>.

### **Análisis estadístico.**

Los datos obtenidos se analizaron con el programa estadístico SPSS 20 (SPSS inc, Chicago, EEUU). Se realizaron análisis no paramétricos, dado el pequeño tamaño de la muestra. Se realizó una comparación entre las medianas con U de Mann-Whitney. Se realizó el test Spearman para análisis de correlaciones. Se realizaron análisis de comparaciones múltiples a través del test de ANOVA 2x2, y en caso de detectarse interacción entre los factores, se aplicó Kruskal-Wallis seguido de post-hoc de Dunns. Se consideraron diferencias significativas al nivel de  $p < 0,05$ .

Al realizar el análisis de los resultados de los test d-ROMs y BAP, se utilizaron los puntos de corte de la literatura, 300 U CARSS y 2000  $\mu\text{Mol/L}$ , respectivamente <sup>17-20</sup>.

La encuesta de tendencia de consumo se analizó en porciones semanales y gramos o mililitros, luego las variables de consumo de alimentos, se separaron en alta y baja según percentil 50, para calcular el Odd Ratio.

## Resultados

A continuación se exponen los resultados con tendencia o significancia estadística, los resultados sin significancia o tendencia fueron omitidos.

### *Descripción de la muestra.*

La muestra consistió en 15 casos y 8 controles. De los casos, 9 presentaban foto tipo I, y 6 foto tipo II. El rango de edad de la muestra fue de 30 a 80 años, con un promedio de 53,3 años y estando el 90 % de la muestra entre 30 y 67 años, con una diferencia significativa tras test de U Mann-Whitney. En relación a la actividad física, de los controles 2 cumplían con la recomendaciones, y de los casos 5 cumplían con las recomendaciones, sin diferencia de distribución entre los grupos (Tabla 1).

Tabla 1: Descripción de la Muestra

	Caso	Control	Total	Significancia estadística
Numero	15	8	23	
Fototipo I (%,nº)	60% 9.	25% 2.	47,80% 11	p <0,05
Fototipo II (%,nº)	40% 6.	75% 6.	52,20% 12	p <0,05
Rango edad	50-80 años	30-67 años	30-80 años	
Media edad	60 años D.S 9	39,6años D.S 12	53,2 años D.S 14,2	P>0,05
Actividad física	33,30%	25%	30,40%	p <0,05

### *Estrés oxidativo*

Respecto al análisis de las variables de estrés oxidativo (EO) y poder reductor del plasma (d-ROMs y BAP), no se constató una diferencia significativa en los niveles de d-ROMs, aunque ocurrió lo contrario en la distribución de los niveles de BAP entre

los grupos estudiados (Figura 2), observándose que los controles tenían una mayor proporción de BAP normales y los casos estaban en su mayoría bajo lo normal<sup>19</sup>

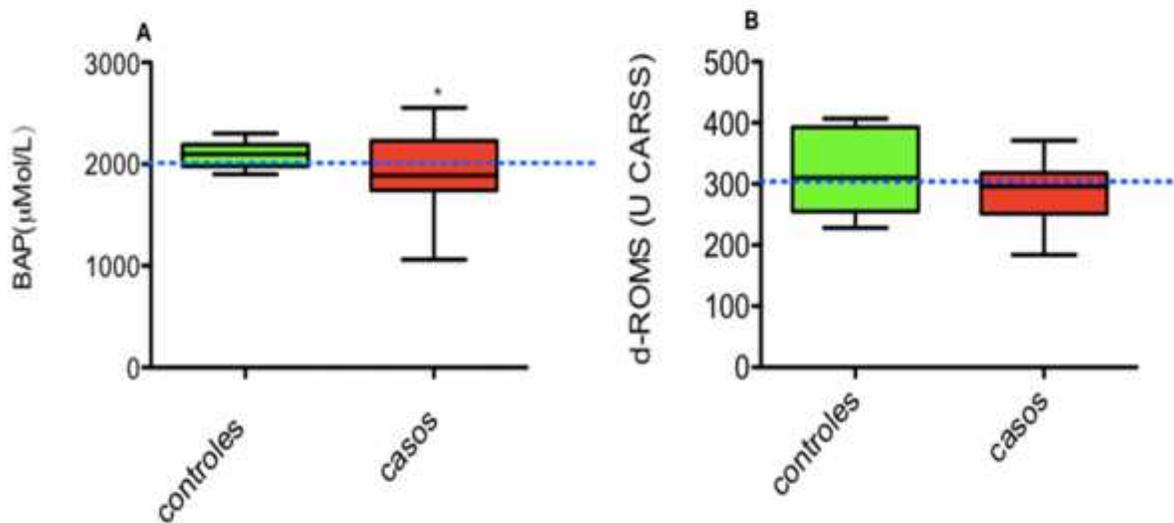


Figura 2. Determinación de estrés oxidativo. A: Poder reductor del plasma (BAP). B: d-ROMs. La Línea punteada indica nivel de corte. \*,  $p < 0,05$  (prueba de U Mann-Whitney )

De acuerdo a los datos de la encuesta de tendencia de consumo(EFC), se realizó la comparación de las medias de consumo de todos los grupos de alimentos y de los resultados relevantes al analizar su composición. Se encontró diferencia significativa en consumo de verduras totales, verduras cocidas, vitamina A y porciones de aceite entre los grupos experimentales. No se encontró diferencia significativa en consumo de vino tinto y pescado. Respecto al aceite, al analizar por porciones semanales, la diferencia alcanza la significancia estadística ( $p=0,04$ ), pero al analizar en mililitros la diferencia no alcanza la significancia estadística ( $p=0,1$ ) (datos no mostrados) (Figura 3).

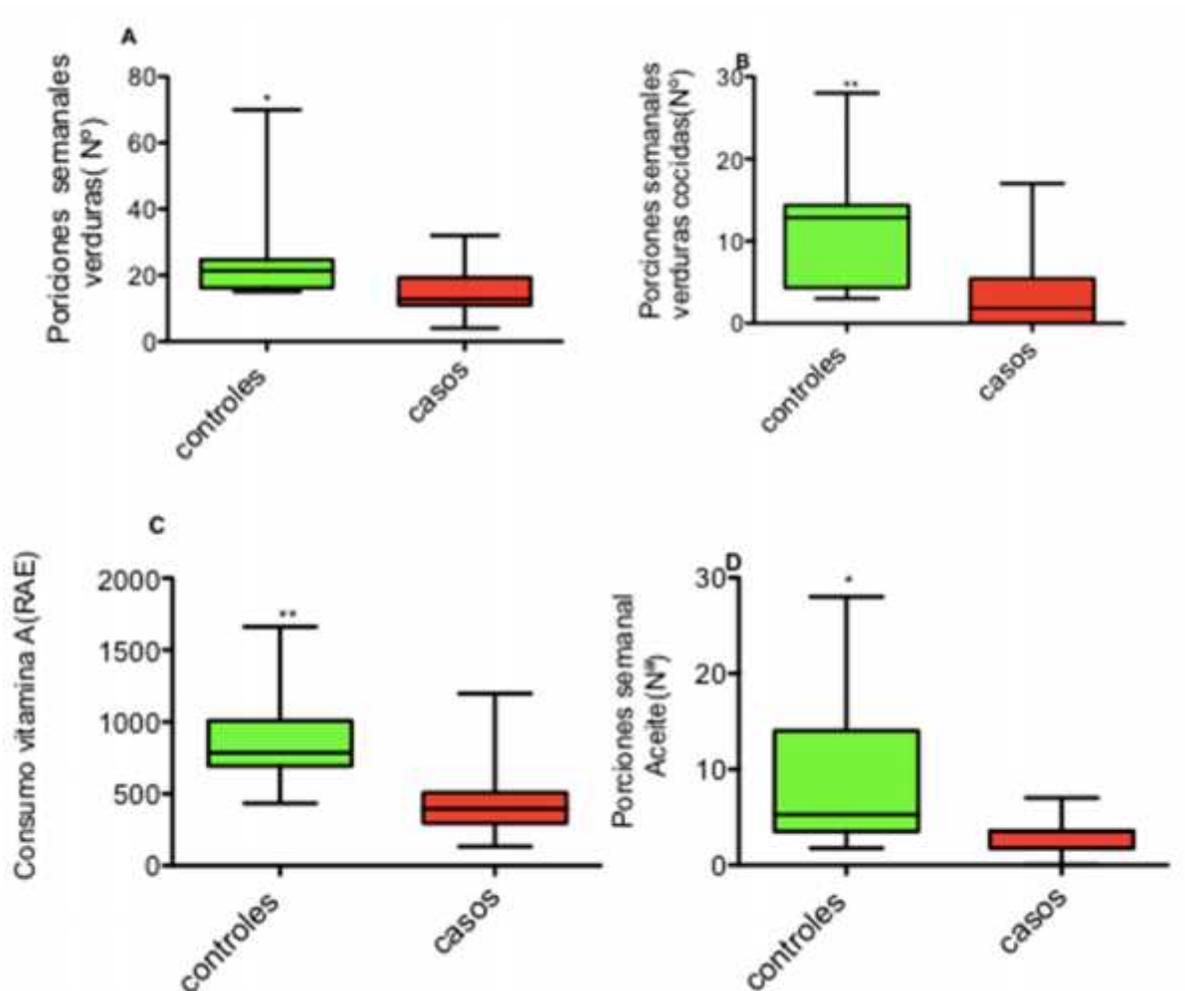


Figura 3. Diferencias de consumo semanal o diario entre casos y controles A: Número de porciones de verduras consumidas por semana. B: Número de porciones de verduras cocidas consumidas por semana. C: Equivalentes activos de vitamina A (RAE), consumidos diariamente. D: Número de porciones de aceite consumidos por semana. \* $p < 0,05$ ; \*\*,  $p < 0,01$ . (prueba de U de Mann-Whitney).

Al analizar diferencias en el consumo de alimentos entre individuos con parámetros normales o alterados de estrés oxidativo (d-ROMs y BAP) se observaron diferencias en el consumo de frutas ( $p = 0,021$ ), tendencias en el consumo de pescados ( $p = 0,051$ ) y alimentos ricos en azúcares ( $p = 0,06$ ), entre los grupos cuando fueron separados por valores altos y bajos de d-ROMs (Figura 4)

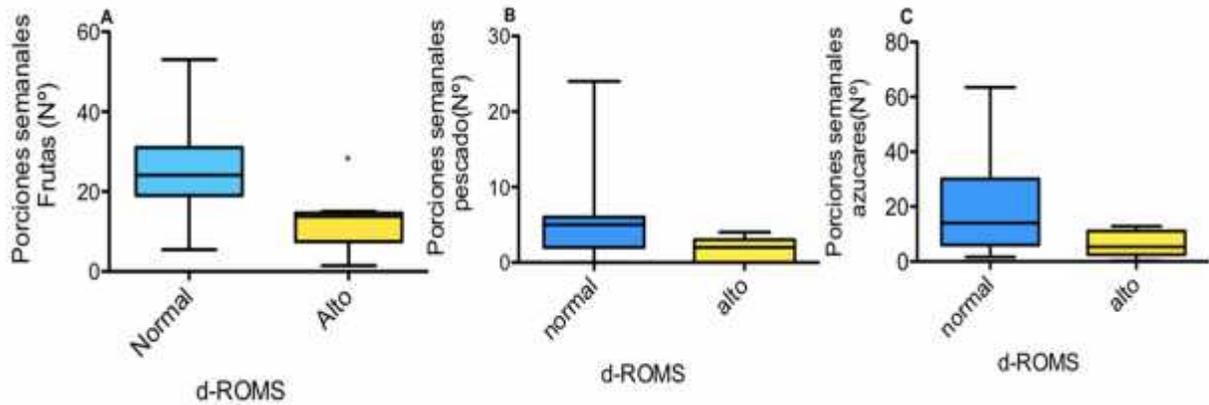


Figura 4. Diferencias de consumo de número porciones semanal entre individuos con el test d-ROMs normal o alto A: Número de porciones de frutas consumidas por semana. B: Número de porciones de pescado consumida en una semana. C: Número de porciones de alimentos ricos en azúcar consumido en una semana. \* $p < 0,05$  (prueba de U de Mann-Whitney)

Se realizó el mismo tipo de análisis, separando grupos por nivel de poder reductor del plasma (BAP) normal o bajo, destacando diferencias entre los grupos en consumo de frutas ( $p=0,022$ ), vitamina C ( $p=0,042$ ), y tendencia en verduras cocidas ( $p=0,063$ ) (Figura 5).

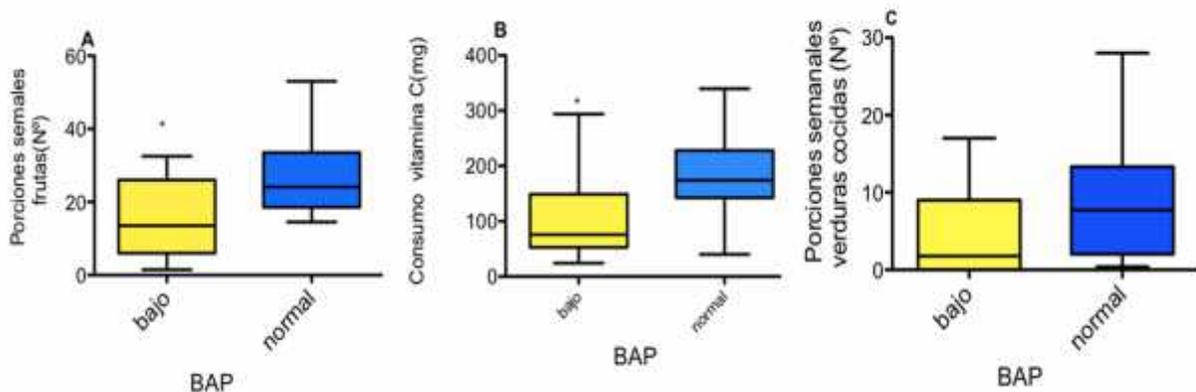


Figura 5. Diferencias de consumo de porciones semanal o diaria, entre individuos con el test BAP normal o bajo. A: Número de porciones de frutas consumidas por semana B: Número de miligramos de vitamina C, consumidos diariamente. C: Número de porciones de verduras cocidas consumidas por semana. \* $p < 0,05$  (prueba de U de Mann-Whitney)

Posteriormente, continuando con los análisis entre los parámetros de estrés oxidativo y los datos obtenidos de la encuesta de tendencia de consumo, se realizaron correlaciones bivariadas, encontrando que d-ROMs muestra una tendencia de correlación con pescado y frutas. El mismo procedimiento se realizó con el BAP test, observando una correlación significativa con vitamina C (Figura 6).

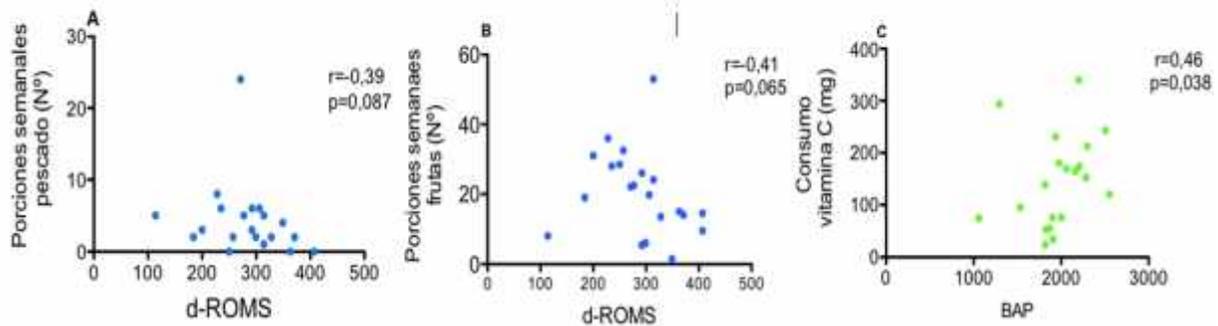


Figura 6. Correlaciones entre parámetros de estrés oxidativo y consumo A: Correlación entre número de porciones de pescado consumida en una semana y d-ROMs B: Correlación entre consumo de número de porciones de fruta a la semana y nivel de d-ROMs, C: Correlación entre consumo diario de mg de vitamina C y BAP.  $r$ , coeficiente de correlación de Spearman.

Luego, se evaluó si estas correlaciones se mantenían o no en cada grupo experimental, para lo cual se realizó el mismo procedimiento, separando en casos y controles. Se observaron correlaciones distintas entre ambos. Así, en controles encontramos correlaciones negativas entre d-ROMs y consumo diario de vitamina C, consumo diario de carbohidratos y consumo diario de fibra dietaria, hallazgos que no se replicaron en los casos (Figura 7).

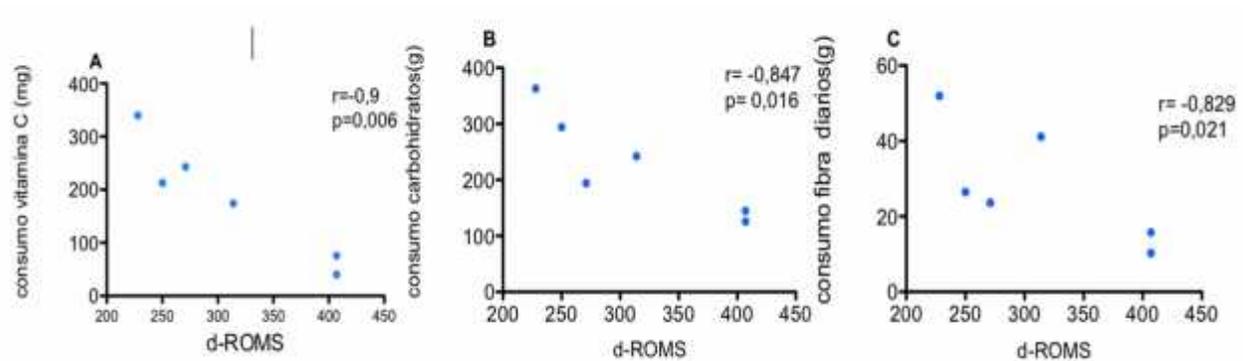


Figura 7. Se muestran los resultados relevantes de la prueba de correlación de Spearman entre consumo de alimentos y d-ROMs en controles. A: Correlación en controles de consumo diario de miligramos de vitamina C y d-ROMs, B: Correlación en controles de consumo diario de gramos de carbohidratos y d-ROMs, C: Correlación entre consumo diario de gramos de fibra dietaria y d-ROMs.  $r$ , coeficiente de correlación de Spearman.

Se analizó, al igual que con d-ROMs, si las correlaciones entre BAP test y consumo de alimentos diferían entre casos y controles. Encontramos correlación positiva en controles, entre consumo diario de miligramos de vitamina C, consumo diario de número de porciones de alimentos ricos en azúcares y una tendencia en relación BAP y consumo de gramos de carbohidratos diarios. Los casos mostraron una correlación negativa con número de porciones de alimentos grasos (Figura 8)

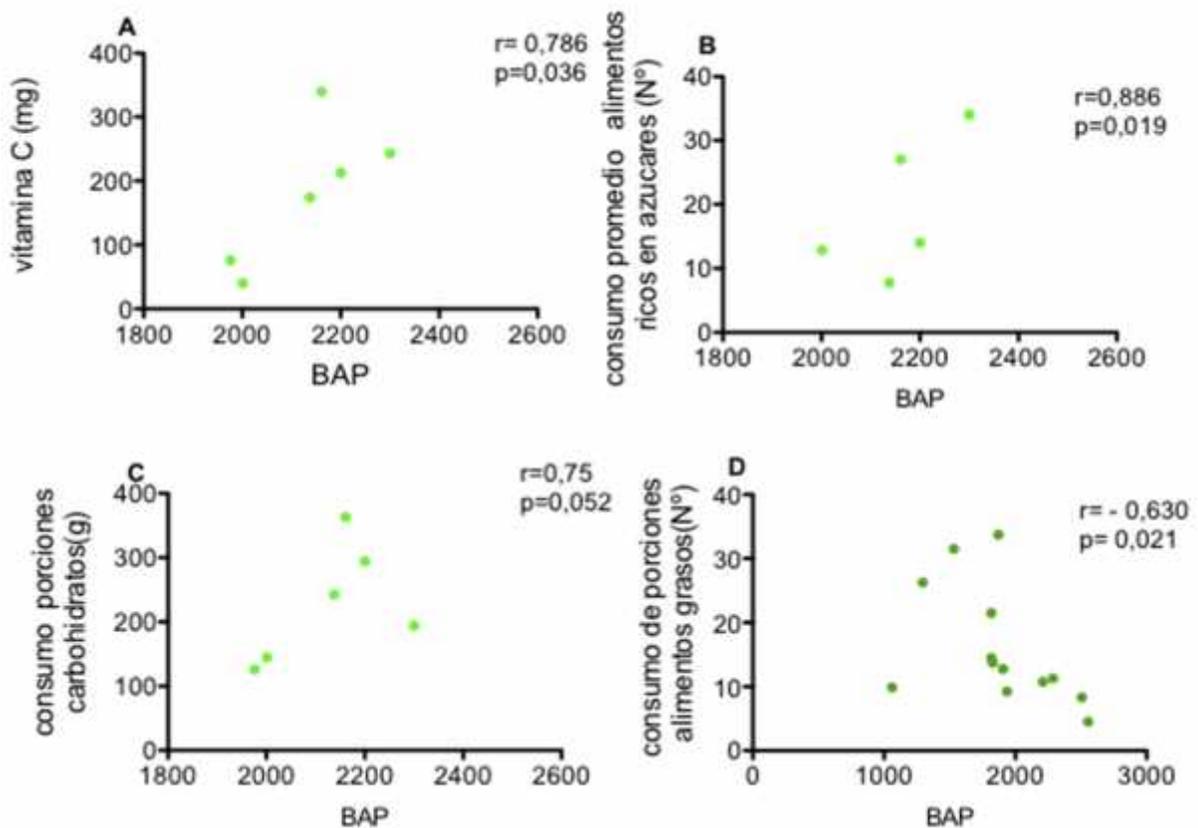


Figura 8. Se muestran resultados relevantes de prueba de correlación de Spearman, entre BAP y consumo de alimentos. A: Correlación de BAP y consumo de miligramos de vitamina C al día en controles, B: Correlación entre BAP y consumo semanal de porciones, de alimentos ricos en azúcar, en controles C: Correlación entre BAP y consumo diario de gramos de carbohidratos en controles. D: Relación de BAP y consumo semanal porciones, de alimentos ricos en grasas en casos.

Considerando los resultados anteriormente expuestos, quisimos analizar con mas detalle, realizando un análisis de ANOVA 2x2, la interacciones entre la presencia de enfermedad, la presencia de d-ROMs alto y consumo de alimentos. Este tipo de análisis no fue posible realizarlo con BAP test , ya que solo dos sujetos del grupo de casos se encontraban en rango normal. Se observó una interacción entre la presencia de enfermedad el nivel de d-ROMs, al analizar el consumo de frutas y vitamina C, es decir, los sujetos enfermos con d-ROMs alto, consumen menor cantidad de vitamina C y frutas que aquellos con d-ROMs normal. Pero incluso aquellos sujetos enfermos con d-ROMs normal consumen menor cantidad de frutas y vitamina C que sujetos sanos (Figura 9).

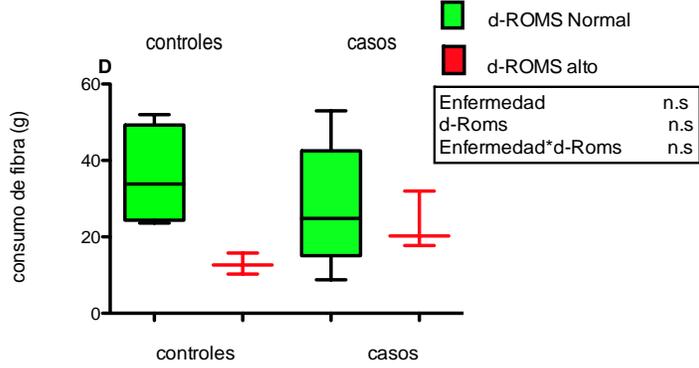
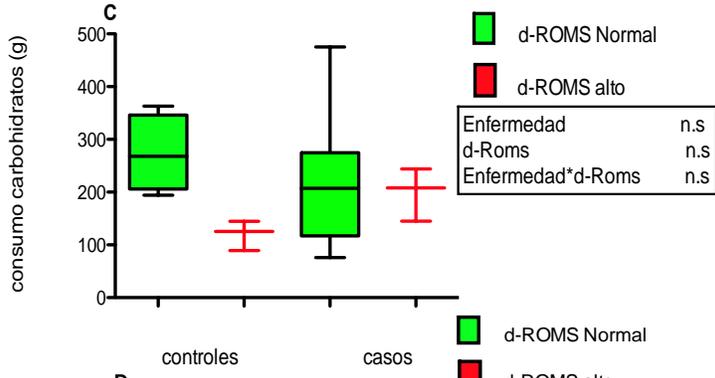
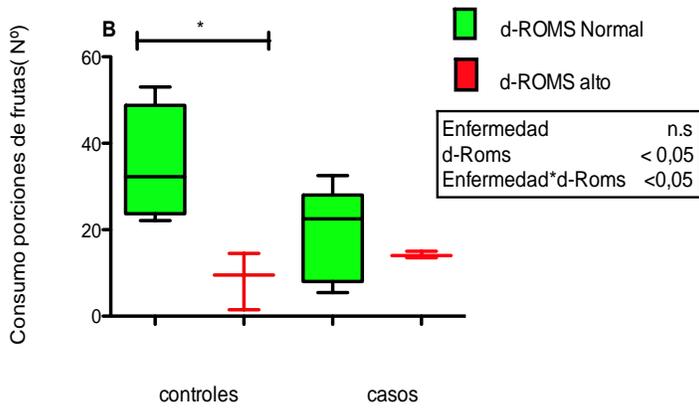
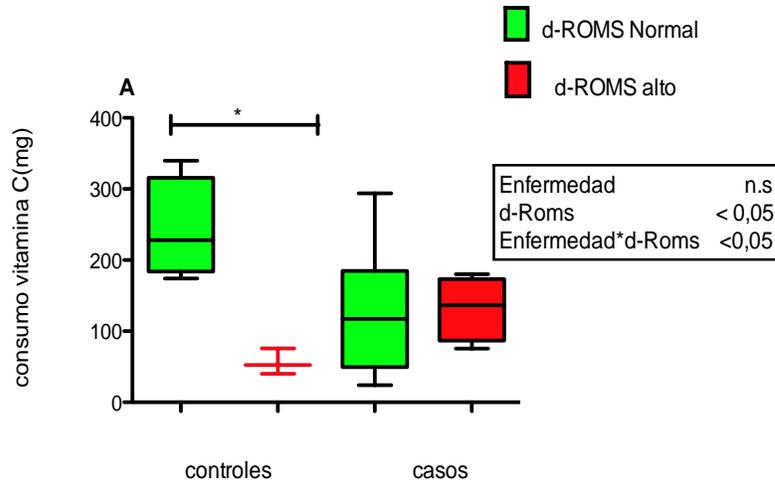


Figura 9. Se realizó el test ANOVA 2x2 , para comparaciones múltiples, con test de Dunn posthoc

A: Consumo diario de miligramos de vitamina C.

B: Consumo semanal de porciones frutas.

C: Comparación de consumo diario de gramos de carbohidratos.

D: Consumos diario gramos de fibra.

Las tablas expresan el resultado del efecto de los factores por separado y posibles interacciones . La línea con asterisco muestra la diferencia de consumo entre controles ( $p < 0,05$ ) n.s (no significativo)

## Discusión

Al observar los resultados de las pruebas de estrés oxidativo (EO), vemos que en la prueba de determina hidroperóxidos en plasma (d-ROMs) no se encontró diferencia entre grupos. Esto puede deberse a varios factores, entre ellos, el d-ROMs mide indirectamente hidroperóxidos, es decir, presencia actual de radicales libres. Además, la enfermedad estudiada es de larga evolución, por lo cual puede no haberse encontrado diferencia al momento del examen<sup>6,22</sup>. Es interesante destacar que si se encontró diferencia en el poder reductor del plasma medido a través del BAP test. En relación a este, observamos que los casos tenían un poder reductor disminuido con respecto al punto de corte y la proporción de pacientes bajo este punto era mayor que en los controles. Esto nos muestra que, a pesar de que la enfermedad es de evolución crónica, el daño queda manifestado en la capacidad de reducir nuevos radicales libres<sup>14</sup>, y esto podría estar relacionado con la observación de asociación entre daño actínico y enfermedades crónicas<sup>5</sup>.

En la literatura existe evidencia de asociación de Queratosis Actínica (QA) y cánceres cutáneos con menor consumo de frutas y verduras, nueces, cacao, té verde, aceite de oliva y vino tinto,<sup>7,11-15</sup>. En nuestros casos se observó un menor consumo aceites, verduras, vitamina A, a la vez que se correlaciona el menor consumo de vitamina C, con un mayor nivel de estrés oxidativo, esto coincide en parte con el estudio nombrado, sin embargo en esta muestra no existía consumo suficiente como para evidenciar diferencias, con una muestra pequeña de nueces, vino tinto, ni te verde en la mayoría de los sujetos. En cuanto a la vitamina C es conocido el papel de esta vitamina como parte de la red antioxidante y su rol fotoprotector<sup>9,28,33</sup>, por lo cual sería interesante continuar estudiando su implicancia en la progresión de la enfermedad.

Es particularmente interesante que el consumo de vitamina A estuviera disminuido en los casos, ya que el consumo de vitamina A ha mostrado reducir el daño por radicales libres a nivel de piel y es utilizado ampliamente en dermatología, si bien mayormente de manera tópica, como retinol y sus derivados<sup>15,30-35</sup>. Esto va en la misma línea de estudios que relacionan retinoides fotodaño y cáncer de piel<sup>9,29-33</sup>. Por

lo tanto, esto apoya la hipótesis inicial que, asociado al daño por la radiación, los pacientes con Queratosis Actínica, al consumir menor cantidad de vitaminas antioxidantes, relevantes para la correcta función de la piel, podrían tener un factor de riesgo adicional a la aparición de la enfermedad.

Lo más interesante corresponde a las correlaciones de alimentos y niveles de los test medidos de estrés oxidativo, y que en ambos test las correlaciones encontradas al separar casos de controles eran significativas en estos últimos. Este hecho lleva a pensar que en los casos, el hecho de la presencia de enfermedad disminuiría la respuesta a los antioxidantes de origen alimentario, lo cual también podría explicar en parte el riesgo aumentado de enfermedades crónicas, ya que presentarían menor respuesta a nuevas noxas. Esto apoyado, por el hecho que al observar la conducta con respecto al consumo de alimentos en controles y casos, separados por niveles de d-ROMs. Sólo en los controles, encontramos diferencias significativas de consumo, es decir, no solo el potencial antioxidante biológico estaría alterado, si no además, la respuesta a antioxidantes alimentarios estaría disminuida<sup>36</sup>.

Un hallazgo inesperado fue la tendencia al mayor consumo de alimentos ricos en azúcar en sujetos con d-ROMs test normal y la correlación positiva entre BAP y consumo de estos alimentos en los controles. Si bien no se realizó la diferencia por tipo de alimentos rico en azúcar, algunos de los alimentos más consumidos de este grupo, fueron chocolates, mermelada y mazapán. Estos alimentos podrían contener antioxidantes, por ejemplo flavonoides del cacao, vitamina E, poli fenoles, lo cual podría explicar en parte este resultado.<sup>37,38</sup>

Dado el pequeño tamaño muestral, no encontramos significancia al calcular los Odd Ratio, entre consumo de alimentos y enfermedad, en estudios a futuro, sería interesante observar si esto cambia al aumentar el tamaño muestral.

Otro punto interesante, es que si bien el estudio efectuado fue transversal, dado la duración de la recolección de datos, cabe destacar que en este periodo uno de los pacientes desarrollo un Carcinoma baso celular, y de manera anecdótica, se observó que al momento del estudio este sujeto registraba d-ROMs sobre lo normal y BAP bajo lo normal, además que consumía menos pescado, vitamina A y frutas que el

promedio de los casos. Esta observación, va en línea con estudios que asocian elementos de la dieta y progresión de enfermedad<sup>13</sup>. Esto, sumado a los resultados significativos a pesar del pequeño tamaño muestral, plantea la necesidad de continuar con esta línea de investigación, quizás ampliando la muestra o realizando un seguimiento a los pacientes participantes del estudio o, en el mejor de los casos, realizar ambas.

#### *Dificultades para la realización del trabajo*

La primera dificultad importante para lograr un mayor poder estadístico, fue el reclutamiento de sujetos, dado que se intentó observar la relación de estrés oxidativo y alimentación, se excluyó a los sujetos que consumieran vitaminas o antioxidantes, por lo cual no se logró el número calculado en el tiempo contemplado para la realización de la presente Tesis. Esto llevó a que se limitó el poder del estudio. Sin embargo, a pesar de estas dificultades, se encontraron hallazgos interesantes que aportan e intentan responder a las preguntas que motivaron esta investigación.

Otras consideraciones son inherentes a las pruebas utilizadas, ya que estas reflejan momentos diferentes en la historia de la enfermedad. Las pruebas de estrés oxidativo miden el estado actual, la encuesta de tendencia de consumo mide la ingesta en el último mes, y el desarrollo de la enfermedad toma años. Por lo tanto, al momento de la injuria la ingesta puede haber sido diferente, ya que los patrones dietarios pueden cambiar al mediano plazo.

Es necesario también considerar las debilidades inherentes al cuestionario de tendencia de consumo. Es sabido que puede existir un sesgo de memoria, y cierta limitante en la cuantificación de algunos alimentos, como por ejemplo aceite y hierbas utilizadas como condimentos. A pesar de esto, es considerada una herramienta útil para evaluar la ingesta de alimentos de baja frecuencia de consumo, como por ejemplo pescado y legumbres<sup>26</sup>.

## **Conclusión**

A pesar de las limitaciones del estudio, se logra observar diferencias de niveles de BAP, consumo de equivalentes activos de vitamina A, verduras y aceites entre casos y controles. Esto apoya la hipótesis ya que refleja una alteración en el equilibrio oxidativo, medido a través del potencial antioxidante plasmático y una ingesta menor a los controles de elementos en la dieta, a la vez que se observa respuesta diferenciada entre grupos respecto al consumo de vitamina C, fruta y fibra. Estos resultados son interesantes y llevan a plantear la necesidad de continuar con la investigación.

## **Estudios a futuro**

En un futuro se podría estudiar ¿Que rol tendrá el poder reductor del plasma en el desarrollo y progresión de la enfermedad? ¿Estará el poder reductor disminuido para mantener normal el nivel de hidroperóxidos? ¿Cómo será la respuesta ante una nueva injuria al tener el poder reductor disminuido? ¿ Existirá un rol protector en la incidencia de enfermedades crónicas asociadas, si se suplementan vitaminas?

## *Bibliografía*

- 1 Organización Mundial de la Salud. Estadísticas Sanitarias Mundiales 2014, disponible en : [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112817/1/WHO\\_HIS\\_HSI\\_14.1\\_spa.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112817/1/WHO_HIS_HSI_14.1_spa.pdf)
- 2 Medina L E, Kaempffer R AM. Mortalidad del adulto en Chile. Rev. méd. Chile . 2000;128:1144–9.
- 3 La Vecchia C, Altieri A, Tavani A. Vegetables, fruit, antioxidants and cancer: a review of Italian studies. Eur J Nutr. 2001 Dec;40(6):261–7
- 4 Rogers HW, Weinstock MA, Harris AR, Hinckley MR, Feldman SR, Fleischer AB, et al. Incidence estimate of nonmelanoma skin cancer in the United States, 2006. Arch Dermatol. 2010 Mar;146(3):283–7. □
- 5 He W, Zhu F, Ma X, Zhao X, Zheng M, Chen Z, et al. Actinic skin damage and mortality--the First National Health and Nutrition Examination Survey Epidemiologic Follow-up Study. PLoS One. 2011;6(5):e19907
- 6 Roewert-Huber J, Stockfleth E, Kerl H. Pathology and pathobiology of actinic (solar) keratosis - an update. Br J Dermatol. 2007 Dec;157 Suppl 2:18–20.
- 7 Rossi R, Mori M, Lotti T. Actinic keratosis. Int J Dermatol. 2007 Sep;46(9):895–904.
8. Estrategia Nacional de Cáncer. Chile 2016, Documento Para Consulta Pública. Octubre 2016, disponible en : <http://web.minsal.cl/wp-content/uploads/2016/10/Estrategia-Nacional-de-Cancer-version-consulta-publica.pdf>
- 9 Sies H, Stahl W. Nutritional protection against skin damage from sunlight. Annu Rev Nutr. 2004;24:173–200.
- 10 Heinrich U, Neukam K, Tronnier H, Sies H, Stahl W. Long-term ingestion of high flavanol cocoa provides photoprotection against. J Nutr. 2006 Jun;136(6):1565–9.
- 11 Payette MJ, Whalen J, Grant-Kels JM. Nutrition and nonmelanoma skin cancers. Clindermatol. 2010 Dec;28(6):650–62.

12 Hughes MCB, Williams GM, Fourtanier A, Green AC. Food intake, dietary patterns, and actinic keratoses of the skin: a longitudinal study. *Am J Clin Nutr.* 2009 Apr;89(4):1246–55.

13 Ibiebele TI, van der Pols JC, Hughes MC, Marks GC, Williams GM, Green AC. Dietary pattern in association with squamous cell carcinoma of the skin: a prospective study. *Am J Clin Nutr.* 2007 May;85(5):1401–8.

14 Vural P, Canbaz M, Selcuki D. Plasma antioxidant defense in actinic keratosis and basal cell carcinoma. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 1999 Sep;13(2):96–101.15  
Godic A, Poljsak B, Adamic M, Dahmane R. The role of antioxidants in skin cancer prevention and treatment. *Oxid Med Cell Longev.* 2014;2014:860479

16 Pérez Gastell PL, Pérez de Alejo JL. Métodos para medir el daño oxidativo. *Revista Cubana de Medicina Militar.* 2000;29:192–8

17 Palmieri B, Sblendorio V. Oxidative stress tests: overview on reliability and use. Part II. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2007 Dec;11(6):383–99.

18 Trotti R, Carratelli M, Barbieri M. Performance and clinical application of a new, fast method for the detection of hydroperoxides in serum. *Panminerva Med.* 2002 Mar;44(1):37–40.

19 Grisignano P, The measurement of oxidative stress ,Reasoned and illustrated guide to the global assessment of oxidative stress by means of the most frequently asked questions , International Observatory of Oxidative Stress, Free Radicals and Antioxidant Systems,Special supplement to Bulletin 4. 1. Jan – Feb 2007. Disponible en <http://www.medial.cz>

20 Luigilorio E, The BAP test and the global assessment of oxidative stress in clinical practice, release 2010, disponible en <http://www.medial.cz> ( consultado enero 2016)

21 Freedberg, Eisen, Wolff, Austen, Goldsmith, Katz, Fitzpatrick. *Dermatologia en medicina General.* sexta. Vol. I. Pag 815, editorial medica panamericana

22 Cesarone MR, Belcaro G, Carratelli M, Cornelli U, De Sanctis MT, Incandela L, et al. A simple test to monitor oxidative stress. *Int Angiol.* 1999 Jun;18(2):127–30.

23 OMS, Recomendaciones mundiales sobre actividad física para la salud. Disponible <http://www.who.int/dietphysicalactivity/publications/9789241599979/es/>

24 Jansen EH, Ruskovska T. Comparative Analysis of Serum (Anti)oxidative Status Parameters in Healthy Persons. *Int J Mol Sci.* 2013;14(3):6106–15.

25 Kim JH, Baik HW, Yoon YS, Joung HJ, Park JS, Park SJ, et al. Measurement of antioxidant capacity using the biological antioxidant potential test and its role as a predictive marker of metabolic syndrome. *Korean J Intern Med.* 2014 Jan;29(1):31–9.

26 Urteaga Ribbeck C, Pinheiro Fernandes AC, Atalah Samur E. [Comparison of results from two dietary interview methods]. *Arch Latinoam Nutr.* 2003 Jun;53(2):172–7.

27 Vetrani C, Costabile G, Di Marino L, Rivellese AA. Nutrition and oxidative stress: A systematic review of human studies. *Int J Food Sci Nutr* 2013; **64**: 312 – 326.

28 Eberlein-Konig B, Ring J. Relevance of vitamins C and E in cutaneous photoprotection. *J Cosmet Dermatol.* 2005 Jan;4(1):4–9.

29 Evans JA, Johnson EJ. The role of phytonutrients in skin health. *Nutrients.* 2010 Aug;2(8):903–28.

30 Chapman MS. Vitamin a: history, current uses, and controversies. *Semin Cutan Med Surg.* 2012 Mar;31(1):11–6.

31 Oikarinen A, Peltonen J, Kallioinen M. Ultraviolet radiation in skin ageing and carcinogenesis: the role of retinoids for treatment and prevention. *Ann Med.* 1991;23(5):497–505.

32 Marquez C, Bair SM, Smithberger E, Cherpelis BS, Glass LF. Systemic retinoids for chemoprevention of non-melanoma skin cancer in high-risk patients. *J Drugs Dermatol.* 2010 Jul;9(7):753–8.

33 Pinnell SR. Cutaneous photodamage, oxidative stress, and topical antioxidant protection. *J Am Acad Dermatol.* 2003 Jan;48(1):1–19

- 34 Camp WL, Turnham JW, Athar M, Elmets CA. New Agents for Prevention of Ultraviolet-Induced Nonmelanoma Skin Cancer. *Seminars in cutaneous medicine and surgery*. 2011;30(1):6-13. doi:10.1016/j.sder.2011.01.003.
- 35 Levin J, Momin SB. How Much Do We Really Know About Our Favorite Cosmeceutical Ingredients? Del Rosso JQ, ed. *The Journal of clinical and aesthetic dermatology*. 2010;3(2):22-41.
- 36 Andersson E, Rosdahl I, Törmä H, Vahlquist A. Differential effects of UV irradiation on nuclear retinoid receptor levels in cultured keratinocytes and melanocytes. *Exp Dermatol*. 2003 Oct;12(5):563-71.
- 37 Valenzuela B Alfonso. El Chocolate, Un Placer Saludable. *Rev. chil. nutr.* Sep 2007, 34(3), 180-190.
- 38 Drogoudi P, Gerasopoulos D, Kafkaletou M, Tsantili E. Phenotypic characterization of qualitative parameters and antioxidant contents in peach and nectarine fruit and changes after jam preparation. *J Sci Food Agric*. 2016 Dec 18, [Epub ahead of print]