



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

# POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Facultad de Estudios Superiores  
Zaragoza

RELACIÓN DEL ENVEJECIMIENTO Y LA DIABETES  
MELLITUS TIPO 2 CON EL ESTRÉS OXIDATIVO Y  
EL PROCESO INFLAMATORIO CRÓNICO

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
(BIOLOGÍA EXPERIMENTAL)

**P R E S E N T A**

**JUANA ROSADO PÉREZ**

DIRECTOR DE TESIS: DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ

MÉXICO, D.F.

MARZO 2007



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

---

---

## **AGRADECIMIENTOS**

El presente trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Gerontología Clínica de la Unidad de Investigación en Gerontología de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza de la UNAM; para su realización se contó con el apoyo del Programa de Becas para Estudios de Posgrado del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) con número de registro 189672 y del Programa de Becas para el Estudio de Posgrado de la UNAM.

La investigación se realizó bajo la dirección del Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez y la supervisión del comité tutorial integrado por la Dra. Alda Rocío Ortiz Muñiz y el Dr. Edelmiro Santiago Osorio y fue apoyada por el proyecto PAPIIT IN 223505-2 de la Dirección General de Apoyo al Personal Académico (DGAPA).

---

---

---

---

## **AGRADECIMIENTOS**

A todas las personas que con su trabajo, apoyo y paciencia me han permitido ver llegar a término este proyecto que ha sido fuente de aprendizaje para mí, en todos los sentidos.

Al Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez, a la Dra. Alda Rocío Ortiz Muñiz y al Dr. Edelmiro Santiago Osorio por recorrer conmigo este largo camino, gracias por hacer de este trabajo algo suyo, gracias por las observaciones, el tiempo, la confianza y comprensión que me brindaron.

Al Dr. Luis Alberto Vargas Guadarrama y al Dr. Mario Altamirano Lozano por el tiempo dedicado a este trabajo y por sus atinados comentarios, gracias por compartir sus conocimientos.

Con mucho cariño, a los miembros de la Unidad de Investigación en Gerontología, por hacerme parte de este equipo, donde además de aprender a trabajar en serio me han enseñado a tener una visión que va más allá del laboratorio y a valorar la amistad y la confianza, gracias a las maestras Mirna, Marilú, Martha, Raquel y Elsa.

---

---

---

---

## **AGRADECIMIENTOS**

A toda mi familia, papi, mami, hermanas, hermano, sobrinos, a todos los que me bendicen al depositar su confianza y cariño en mí, gracias por darme su apoyo en todo momento, sepan que esto es lo que me impulsa y da fuerzas para seguir adelante.

Gracias a todos los compañeros y amigos que me han dedicado algo de su cariño y tiempo, gracias por compartir sus vivencias, por escucharme y aconsejarme, aquí tendría que repetir algunos nombres, pero mejor agrego: Ada, recuerda que yo no te olvido, has sido uno de los principales apoyos que he encontrado en el camino, gracias y cuenta conmigo.

Sobre todo gracias a Ti, sabes que estoy conciente de que estas aquí, gracias por todo y no me sueltes, que yo no lo hago.

---

---

---

---

## ÍNDICE

I. Resumen	1
Abstract	2
II. Abreviaturas	3
III. Introducción	5
IV. Marco Teórico	6
IV.1. Envejecimiento	5
IV.1.1. Transición demográfica	9
IV.1.2. Transición epidemiológica	10
IV.2. Diabetes Mellitus	12
IV.2.1. Diabetes Mellitus y Resistencia a la Insulina	13
IV.2.2. Estrés Oxidativo y Diabetes Mellitus	16
IV.2.3. Inflamación y Diabetes mellitus	27
IV.2.3.1. Inflamación y productos de glucosilación avanzada	30
IV.2.3.2. Inflamación y tejido adiposo: Adipocinas	34
V. Planteamiento del Problema	42
VI. Hipótesis	43
VII. Objetivos	44
VIII. Material y Métodos	45
VIII.1. Población y diseño	45
VIII.2. Variables	45
VIII.3. Técnicas	45
VIII.4. Diseño Estadístico	61
IX. Resultados	62
X. Discusión	76
XI. Conclusiones	84
XII. Perspectivas	85
XIII. Referencias	86

---

---

## I. RESUMEN

**Antecedentes:** El envejecimiento es un proceso adaptativo caracterizado por una disminución de la respuesta homeostática como resultado de la acumulación de daños estructurales y funcionales que incrementan la susceptibilidad a los padecimientos crónico degenerativos. Ha sido vinculado con procesos como el estrés oxidativo (EOx) y la inflamación crónica, los cuales también se presentan en la diabetes mellitus (DM), asociados a la hiperglucemia crónica. Sin embargo, el efecto de la coexistencia del envejecimiento y la DM2 sobre la intensidad del EOx y del proceso inflamatorio crónico (PIC) no ha sido estudiado, de ahí la importancia de la presente investigación.

**Objetivo:** Determinar la relación del envejecimiento y la DM2 con el EOx y el PIC.

**Método:** Se realizó un estudio observacional, prolectivo, transversal y comparativo en una muestra de 224 sujetos, conformada en cuatro grupos: i) 56 adultos jóvenes sanos (AJS, de  $47\pm 7$  años), ii) 60 adultos jóvenes con DM2 (AJD, de  $52\pm 6$  años), iii) 40 adultos mayores sanos (AMS de  $67\pm 7$  años) y iv) 72 adultos mayores diabéticos (AMD de  $68\pm 7$  años). Se les realizaron mediciones antropométricas, química sanguínea, hemoglobina glucosilada (HbA1c), y biometría hemática; se determinaron marcadores de estrés oxidativo: lipoperóxidos (LPO), superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx), capacidad antioxidante total sérica (CAT) y se calculó la brecha antioxidante (GAP). También se midieron los marcadores de inflamación interleucina 6 (IL-6) y factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (FNT- $\alpha$ ), por método de ELISA y proteína C reactiva (PCR) por aglutinación. Además se cuantificó leptina por método inmunoradiométrico (IRMA) y adiponectina e insulina por radioinmunoensayo (RIA). Los datos fueron analizados a través de ANOVA, U de Mann-Whitney, frecuencias, regresión lineal múltiple y estimación de riesgos por análisis univariado utilizando el paquete estadístico SPSS V.10.0.

**Resultados:** Los niveles de HbA1c, glucosa y la resistencia a la insulina fueron significativamente mayores en los sujetos con DM y aun más en los AMD. Asimismo, los AMD presentaron niveles más altos de LPO que los AJD, por otro lado, la actividad de la GPx fue significativamente menor y la razón SOD/GPx mayor en los AJD en comparación con los AJS. Las concentraciones de FNT- $\alpha$  fueron significativamente más altas en los sujetos con DM en ambos grupos de edad. En ambos grupos de diabéticos fue menor el porcentaje de sujetos sin EOx y mayor el de sujetos con EOx moderado, 10% de los AMD presentaron EOx severo. Respecto a la hiperleptinemia, hiperinsulinemia y PCR positiva la frecuencia fue significativamente mayor en los AMD en comparación con los AMS, la frecuencia de FNT- $\alpha$  elevado fue mayor en los sujetos con DM en ambos grupos de edad ( $p < 0.05$ ).

De la regresión lineal múltiple se observó asociación significativa entre la concentración de HbA1c con la Gpx ( $r = -0.37$ ,  $p < 0.05$ ) y con la razón SOD/GPx ( $r = 0.35$ ,  $p < 0.05$ ), además de relación entre la edad con la SOD ( $r = 0.37$ ,  $p < 0.05$ ) y con la relación SOD/GPx ( $r = 0.31$ ,  $p = 0.05$ ) en los sujetos sanos, mientras en el grupo de diabéticos se encontró asociación entre la HbA1c con la edad ( $r = 0.21$ ,  $p < 0.05$ ), la SOD ( $r = -0.21$ ,  $p < 0.05$ ), los AT ( $r = -0.25$ ,  $p < 0.01$ ) y el GAP ( $r = -0.21$ ,  $p < 0.05$ ), asimismo, se observó una asociación significativa entre la edad con la concentración de LPO ( $r = 0.27$ ,  $p < 0.01$ ), actividad de la SOD ( $r = -0.26$ ,  $p < 0.01$ ), el GAP ( $r = -0.35$ ,  $p < 0.001$ ) y AT ( $r = -0.35$ ,  $p < 0.001$ ), además de una asociación entre la edad con la IL-6 ( $r = 0.32$ ,  $p < 0.01$ ), el FNT- $\alpha$  ( $r = 0.22$ ,  $p < 0.05$ ) y la adiponectina ( $r = 0.23$ ,  $p < 0.05$ ). Como factores de riesgo para EOx se encontró el ser diabético (RM = 2.1, IC<sub>95%</sub> 1.2-3.8,  $p = 0.015$ ) al igual que ser AMD (RM = 3.1, IC<sub>95%</sub> 1.3-7.5,  $p = 0.014$ ); para tener concentraciones elevadas de FNT- $\alpha$  fueron factores de riesgo ser mayor de 60 años (RM = 1.9, IC<sub>95%</sub> 1.1-3.5,  $p = 0.029$ ), el ser diabético (RM = 12, IC<sub>95%</sub> 5.0-28,  $p < 0.001$ ) y el presentar ambas (RM = 14, IC<sub>95%</sub> 3.7-53.7,  $p < 0.001$ ).

**Conclusión:** Los resultados del estudio apoyan nuestra hipótesis, respecto a la asociación y el efecto aditivo entre el envejecimiento y la DM2 sobre la frecuencia e intensidad del EOx y del PIC.

---



---

**ABSTRACT**

**Backgrounds:** Ageing is an adaptive process characterized by lower homeostatic responses due structural and functional cumulated damages to life-span, which increase the vulnerability to chronic-degenerative diseases. This process has been linked with biochemical disturbances such as oxidative stress (OxS) and chronic inflammation (CI), at the same time, OXs and CI are physiopathology mechanisms related-diabetes and higher levels of plasma glucose chronic state. However, we do not know if the interaction ageing and diabetes mellitus type 2 (DM2) has an additive effect on OxS and CI.

**Objective:** To determine the relationship between ageing and DM2 with OXs and CI.

**Method:** A cross-sectional and comparative study was carried out in a sample of 224 subjects: i) 56 healthy young adults (HYA, mean age  $47\pm 7$  years), ii) 60 young adults with DM2 (YAD, mean age  $52\pm 6$  years), iii) 40 healthy older adults (HOA, mean age  $67\pm 7$  years) and iv) 72 older adults with diabetes mellitus 2 (OAD, mean age  $68\pm 7$ ). We did anthropometric measurements, blood chemical, glycated hemoglobin (HbA1c) and hematic biometry. Also it was measured plasma lipid peroxides (LPO), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), total antioxidant status (TAS), and antioxidant gap, as biological markers of OxS, and interleukin 6 (IL6), tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) by ELISA methods, C-reactive protein (CRP) by agglutination. Besides, it was determined leptin serum levels by immunoradiometric assay and adiponectin and insulin plasma levels by radioimmunoassay. Data were analysed utilizing SPSS-10, both descriptive and inferential analyses were undertaken: mean, standard deviation (SD), percentages, odds ratio with confidence interval of 95% (CI<sub>95%</sub>), ANOVA test, Mann-Whitney U test, and multiple regression analysis.

**Results:** We observed that HbA1c, glucose levels and insulin resistance were higher in diabetic subjects than healthy ( $p < 0.05$ ) with more intensity in OAD. Likewise the group of OAD showed higher LPO than YAD, however, it was found that the GPx was lower and SOD/GPx ratio was higher in YAD than HYA ( $p < 0.05$ ).

On the other hand, the concentrations of TNF- $\alpha$  were higher in the diabetic groups than healthy groups, likewise, the percentage of moderate and severe OxS was higher in the diabetic groups than healthy groups (OxS severe, OAD 10% vs. others groups 0%). Respect hyperleptinemia, hyperinsulinemia and high levels of CRP were higher in OAD than OAH, and percentage of TNF- $\alpha$  high levels was higher in diabetic groups than healthy groups ( $p < 0.05$ ).

In the multiple regression analysis, it was observed a negative correlation significantly between HbA1c concentration and GPx ( $r = -0.37$ ,  $p < 0.05$ ), and positive correlation with the SOD/GPx ratio ( $r = 0.35$ ,  $p < 0.05$ ). Also, we found a positive correlation between age with SOD ( $r = 0.37$ ,  $p < 0.05$ ) and SOD/GPx ratio ( $r = 0.31$ ,  $p < 0.05$ ) in the healthy group. However in the diabetics group it was observed a positive association between HbA1c with age ( $r = 0.21$ ,  $p < 0.05$ ), SOD ( $r = -0.21$ ,  $p < 0.05$ ), TAS ( $r = -0.25$ ,  $p < 0.01$ ) and the GAP ( $r = -0.21$ ,  $p < 0.05$ ).

Besides, also we found a significant correlation between age with LPO ( $r = 0.27$ ,  $p < 0.01$ ), SOD ( $r = -0.26$ ,  $p < 0.01$ ), GAP ( $r = -0.35$ ,  $p < 0.001$ ), TAS ( $r = -0.35$ ,  $p < 0.001$ ), IL-6 ( $r = 0.32$ ,  $p < 0.01$ ), TNF- $\alpha$  ( $r = 0.22$ ,  $p < 0.05$ ) and adiponectin ( $r = 0.23$ ,  $p < 0.05$ ).

We observed as risk factors for OxS to DM2 (OR = 2.1, CI<sub>95%</sub> 1.2-3.8,  $p = 0.015$ ) and age ( $\geq 60$  years) (OR = 3.1, CI<sub>95%</sub> 1.3-7.5,  $p = 0.014$ ); risk factors for TNF- $\alpha$  high levels, the age ( $\geq 60$  years) (OR = 1.9, CI<sub>95%</sub> 1.1-3.5,  $p = 0.029$ ), DM2 (OR = 12, CI<sub>95%</sub> 5.0-28,  $p < 0.001$ ) and DM2 & age ( $\geq 60$  years) (OR = 14, CI<sub>95%</sub> 3.7-53.7,  $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** The results support our hypothesis about the additive effect of the ageing and DM2 on frequency and intensity of OxS and CI.

---



---



---



---

## II. ABREVIATURAS

EOx	Estrés Oxidativo
PIC	Proceso Inflamatorio Crónico
DM 2	Diabetes Mellitus tipo 2
AM	Adultos Mayores
AJS	Adulto Joven Sano
AJD	Adulto Joven con DM2
AMS	Adulto Mayor Sano
AMD	Adulto Mayor con DM2
HbA1c	Hemoglobina Glucosilada
LPO	Lipoperóxidos
SOD	Superóxido Dismutasa
GPx	Glutación Peroxidasa
SOD/GPx	Relación SOD/GPx
CAT	Capacidad Antioxidante Total
GAP	Brecha Antioxidante
IL	Interleucina
FNT- $\alpha$	Factor de Necrosis Tumoral alfa
PCR	Proteína C reactiva
RIA	Radioinmunoensayo
IRMA	Método Inmuno radiométrico
ELISA	Inmunoensayo Ligado a Enzima
ANOVA	Análisis de Varianza
RM	Razón de Momios
IC	Intervalo de Confianza
RI	Resistencia a la Insulina
EPOC	Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica
IRS, SRI	Sustrato Receptor de Insulina
GLUT	Transportador de insulina
ATP	Trifosfato de Adenosina
PI3K	Fosfatidil Inositol 3 Cinasa
RL	Radicales Libres
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
NADPH	Nicotin-Adenin-Dinucleotido Fosfato Reducido
UV	Ultra Violeta
ERO's	Especies Reactivas de Oxígeno
NADH	Nicotin Adenin Dinucleotido Reducido
AGE'S	Productos de Glucosilación Avanzada
PKC	Protein Cinasa C
1,3-DPG	1,3 difosfoglicerato
GAPDH	Gliceraldehído -3 fosfato deshidrogenasa
GA-3P	Gliceraldehído 3 fosfato
MGO	Metilgloxal
DHAP	Dihidroxiacetona fosfato
GLY-3P	Glicerol-3 fosfato
GLYK	Glicerol cinasa

---



---

---

---

GLY	Glicerol
DAG	Diacylglicerol
HLA	Antígeno de Linfocitos Humanos
MHC	Sistema Mayor de Histocompatibilidad
RAGE	Receptor de AGE's
NF- $\kappa$ B	Factor Nuclear kapa B
I $\kappa$ -B	Inhibidor del FN- $\kappa$ B
IMC	Índice de Masa Corporal
PPAR	Receptor Activado del Proliferador de Peroxisomas
CAM	Moléculas de Adhesión Celular
SOCS-3	Factor Supresor de Señalización de Citocinas
TAS	Tensión Arterial Sistólica
TAD	Tensión Arterial Diastólica
EDTA	Ácido Etilendiamintetracético
CPM	Cuentas Por Minuto
HOMA	Homeostasis Model Assesment/ Modelo homeostático
MDA	Malonildialdehído
TBA	Acido Tiobarbitúrico
BHT	Butiril Hidroxitolueno
TMP	Tetrametoxipropeno
INT	Cloruro de 2-(4-yodofenil)-3(-4nitrifenol)-5-feniltetrazolio
GSSG	Glutación Oxidado
GR	Glutación reductasa
GSH	Glutación Reducido
ABTS	2,2-azido-di(etilbenzotiazolin sulfonato)
HDL	Lipoproteínas de Alta Densidad

---

---

---

---

### III. INTRODUCCIÓN

El envejecimiento es un proceso gradual, intrínseco, individualizado e inevitable que se caracteriza por la disminución relativa de la capacidad del organismo para mantener la homeostasis, lo cual lo hace más susceptible a desarrollar enfermedades infecciosas y crónico-degenerativas.

En las últimas décadas se ha incrementado el interés en este proceso, debido al aumento significativo de la población mayor de 60 años en el mundo y a la transición epidemiológica que se vive en la actualidad, ya que las enfermedades infecto-contagiosas han sido desplazadas por los padecimientos crónico-degenerativos de modo que éstos se presentan con alta frecuencia a nivel mundial. En nuestro país prevalecen tanto las enfermedades infecto-contagiosas como las crónico-degenerativas, de ahí que se tengan repercusiones significativas en los costos en los servicios de salud.

Por otro lado, evidencias científicas recientes han demostrado que el envejecimiento está asociado con el desarrollo de procesos fisiopatológicos que propician mayor deterioro del organismo, tales como el EOx y el PIC, los cuales se han visto involucrados en el desarrollo de diversas patologías que se presentan con alta frecuencia entre los adultos mayores (AM) como son aterosclerosis, distintos tipos de cáncer, artritis reumatoide, cataratas, enfermedad cerebro-vascular, isquemia-reperusión, enfermedad de Alzheimer, hipertensión arterial y DM2 entre otras. En este sentido la DM2 es una enfermedad que se caracteriza por una hiperglucemia crónica que cursa con EOx, aunado a un PIC, de ahí que se le considere como un modelo de envejecimiento acelerado, debido a la similitud de las alteraciones bioquímicas que se presentan con el envejecimiento.

Sin embargo, no existen reportes científicos concluyentes que demuestren si se incrementa en la frecuencia e intensidad del EOx y el PIC cuando coexisten la DM2 y la vejez

Por tal motivo, la finalidad del presente estudio fue determinar la influencia del envejecimiento sobre los marcadores de EOx y de PIC en pacientes con DM tipo 2.

## IV. MARCO TEÓRICO

### IV.1. ENVEJECIMIENTO

El envejecimiento es un proceso en el que la acumulación gradual de cambios morfológicos y fisiológicos generan una disminución de las funciones del organismo e incrementa la susceptibilidad a los padecimientos infecciosos, metabólicos, autoinmunes y neoplásicos que acompañan a la edad avanzada. Es un proceso cuya naturaleza ha sido motivo de numerosas especulaciones y ha sido objeto de estudio para filósofos y científicos desde tiempos remotos; sin embargo en las últimas décadas su abordaje ha sido más holístico y multidisciplinario, ya que se consideran los aspectos biológicos, psicológicos y sociales, con énfasis en las repercusiones demográficas, epidemiológicas y económicas en el mundo y en regiones específicas.<sup>1</sup>

En este sentido, la atención a los problemas de salud de los AM se ha convertido en una de las prioridades de los países tanto desarrollados como en aquellos que están en vías de desarrollo, como es el caso de México, ya que gracias a los progresos científicos y tecnológicos se ha registrado un incremento en la esperanza de vida y la longevidad en las poblaciones, lo cual, a pesar de reflejar los avances en materia de medicina, nutrición e higiene, paradójicamente se ha llegado a considerar un problema de tipo social e incluso económico.<sup>2</sup>

El incremento en la esperanza de vida no implica que los AM lleguen a esta etapa en un estado saludable sino que la mayoría de ellos cursan con padecimientos crónico degenerativos como la DM2, la hipertensión arterial, la arteriosclerosis, la insuficiencia cardiaca, el cáncer, entre otras enfermedades, las cuales requieren atención del personal de salud en forma constante, medicamentos y cuidados, lo que implica un incremento en los costos tanto para los sistemas de salud como para las familias, además hace necesaria la investigación científica para lograr la comprensión de la fisiopatología de estos padecimientos en la vejez con el fin de lograr mejoras en la prevención y el tratamiento, en este sentido la biogerontología es una disciplina relativamente nueva que aborda esta temática y es el área bajo la cual se enfoca el presente estudio.<sup>2</sup>

---

---

En cuanto al envejecimiento cabe mencionar que existen diversas formas de definirlo y distintas teorías para tratar de explicarlo, al respecto Medvedev (1990) señala que existen alrededor de 300 teorías del envejecimiento, muchas de ellas propuestas hace cientos de años y otras son resultado del progreso en el conocimiento de fenómenos biológicos y de la aplicación de nuevas técnicas y métodos en la investigación del envejecimiento; algunos autores igual consideran que teorías recientes pueden ser la versión moderna de teorías anteriores.<sup>3,4</sup>

Sin embargo, dado que existen varios enfoques bajo los cuales se pretende explicar el proceso de envejecimiento encontramos teorías basadas en los cambios provocados por la edad, teorías relacionadas con el daño primario, otras basadas en programación genética, las que lo explican desde el punto de vista evolucionista, las sistémicas o tejido específicas, las que desarrollan modelos matemáticos y las denominadas compuestas en las que se superponen otras varias, pues aunque el posicionarse en un punto facilita la comprensión de los fenómenos, no es posible explicar un proceso tan complejo desde una sola perspectiva, por lo cual es importante reconocer que no existe una teoría que por si sola sea capaz de explicar el envejecimiento. La corriente teórica en la que nos enmarcamos es la que explica al envejecimiento como consecuencia de una defensa deficiente ante el daño oxidativo generado por las especies oxidantes producidas en el metabolismo aeróbico, es decir la teoría de los radicales libres y el EOX propuesta por Denham Harman en 1956 y que se encuentra dentro de las teorías celulares.<sup>5-11</sup>

El EOX es uno de los factores principales que influyen en los mecanismos biológicos del envejecimiento, aunque quizá no sea el factor determinante ni el único, debido a que es un proceso multifactorial y complejo. Por lo anterior, definimos al envejecimiento como un proceso gradual y adaptativo, caracterizado por una disminución relativa de la respuesta homeostática debida a las modificaciones morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y psicológicas, propiciadas por los cambios inherentes a la edad y al desgaste acumulado ante los retos que enfrenta el organismo a lo largo de la historia del individuo en un ambiente determinado.<sup>11-12</sup>

Debemos aclarar que aunque en nuestro país se considere ancianos a las personas mayores de 60 años, desde el punto de vista del ciclo vital humano el envejecimiento es un

---

---

proceso que se inicia alrededor de la cuarta década de la vida y es precedido por dos etapas, la etapa de desarrollo que abarca desde el nacimiento hasta los 24 años y la de madurez que inicia a los 25 años y termina a los 44 años aproximadamente dando paso al inicio al proceso de envejecimiento en el cual disminuye la eficiencia de las funciones del organismo, esta etapa (45 años y más) continúa hasta la longevidad máxima potencial de los humanos de 130 años.<sup>12-14</sup>

Sin embargo, para unificar criterios, facilitar la realización y reporte de estudios y por cuestiones de índole social, por consenso internacional y de manera un tanto arbitraria, se ha establecido que anciano o adulto mayor es aquella persona mayor de 60 años en los países en vías de desarrollo y en los países del primer mundo a partir de los 65 años, aunque como ya se mencionó previamente, el envejecimiento biológico se inicia alrededor de los 45 años.<sup>12</sup>

Independientemente de lo que impliquen los conceptos de envejecimiento, es importante mencionar que existen evidencias que soportan como mínimo cinco características comunes al envejecimiento en los mamíferos:<sup>14</sup>

- I. Existe un incremento de la mortalidad con la edad después de la etapa de madurez. Se ha descrito un crecimiento exponencial de la muerte con el avance de la edad.
  - II. Se dan cambios de la composición bioquímica de los tejidos con la edad. Hay disminución en la masa muscular y ósea con el envejecimiento, el tejido adiposo se incrementa, se desarrollan depósitos de lipofucsina, (pigmento de la edad) y hay entrecruzamiento con las proteínas estructurales como el colágeno, debido a procesos que se dan en el envejecimiento como la oxidación y la glucosilación.
  - III. Decremento progresivo en la capacidad fisiológica. Se ha documentado que existen muchos cambios fisiológicos con la edad, aun cuando no haya enfermedades.
  - IV. Se reduce la habilidad para responder adaptativamente a los estímulos ambientales con la edad. En el envejecimiento, es un cambio fundamental la disminución de la habilidad para mantener la homeostasis.
  - V. Incremento de la susceptibilidad y vulnerabilidad a la enfermedad. Se debe a que los cambios en la función de muchos tipos celulares llevan a disfunción de tejidos y órganos para finalmente propiciar enfermedades sistémicas.
- 
-

El considerar todas o alguna de estas características del envejecimiento es lo que ha dado origen a la variedad de teorías que ya se ha mencionado, sin embargo para el estudio de la biogerontología es primordial apreciar de manera integral todos los cambios que implica el proceso de envejecimiento, entender que es multifactorial y complejo para así ser capaces de desarrollar conocimientos útiles para la comprensión y el manejo de los padecimientos en este grupo poblacional.

#### IV.1.1 Transición Demográfica

Como ya se ha mencionado, a nivel mundial se han dado cambios demográficos que han provocado de manera general un mayor interés en el proceso de envejecimiento, ya que se ha observado un incremento significativo de este grupo poblacional. En este sentido, la transición demográfica se refiere al incremento en la población de AM con respecto a la población de jóvenes. La Organización de Naciones Unidas (ONU) reportó que en el año 2002 el 10% de la población mundial era de mayores de 60 años (629 millones) y se tiene proyectado que para el 2025 este porcentaje incrementará hasta 14% y para el 2050 será de 20%; se ha calculado que para el año 2150 una de cada tres personas será mayor de 60 años.<sup>15</sup>

Respecto a México, se ha observado que en las últimas décadas se ha experimentado un aumento significativo de la población anciana, ya que en 1990 eran 4,988,158 AM (6.1% de la población) en el año 2005 eran 8,364, 334 (8.1%) y se tiene proyectado que para el 2025 serán en 12.4% de la población (17,512,000) y para el 2050 el 24.3% es decir 35.7 millones de AM, lo cual implica que nuestro país debe prepararse para poder atender las necesidades de este grupo poblacional. (Cuadro IV.1).<sup>16-17</sup>

Cuadro IV.1.1 Población de mayores de 60 años en México.

Año	Población Total	Mayores de 60 años	Porcentaje (%)
1950	25,791,017	1,419,685	5.5
1970	48,225,238	2,709,238	5.6
1990	81,225,238	4,988,158	6.1
1995	91,158,290	5,969,643	6.5
2000	97,014,867	7,090,873	7.3
2005	103, 263, 388	8,364, 334	8.1
2025*	141,225,806	17,512,000	12.4
2050*	146,971,050	35,713,967	24.3

\*Proyecciones. Fuente: INEGI, 2006

#### IV.1.2 Transición Epidemiológica

El envejecimiento poblacional secundario a la transición demográfica repercute en las causas de morbilidad y mortalidad de la población. En México hasta 1970 las principales causas de muerte eran las enfermedades infecciosas, sin embargo al igual que en el resto del mundo han sido sustituidas por las crónico-degenerativas, de ahí que se señale que el país está cursando por una transición epidemiológica, no obstante Chávez (1993), señala que esto no es real ya que en nuestro país no se han resuelto las altas tasas prevalentes de padecimientos infecto-contagiosos y ahora además ya se tiene grandes problemas por los crónico-degenerativos. <sup>2</sup>

En este sentido las tres principales causas de muerte en los adultos mayores en México y de manera particular en población de 65 años o más, se encuentran los padecimientos cardiacos, DM2 y la enfermedad cerebrovascular.(Cuadro IV.1.2)<sup>18</sup>

Así mismo, entre la primeras causas de morbilidad figura la hipertensión arterial, con una prevalencia de más del 50% para los hombres mayores de 60 años y más del 60 % para las mujeres en el mismo grupo de edad y la DM2 con una magnitud del 19.2%, 21.3% para mujeres de 60 a 69 años de edad y 16.8% para los hombres en el mismo grupo. Ambas patologías propician con mucha frecuencia limitaciones físicas en los adultos mayores, de ahí la relevancia de prevenirlas, detectarlas y controlarlas oportunamente.<sup>19</sup>



Cuadro IV.1.2. Principales causas de mortalidad en edad posproductiva (&gt;65 años) en la República Mexicana, 2001.

Número de orden	Causa	Defunciones	Tasa*	%
	Total	223,432	4,511.46	100
1	Enf. isquémicas del corazón	33,387	674.16	14.9
2	Diabetes Mellitus	29,639	598.48	13.3
3	Enfermedad cerebrovascular	19,253	388.76	8.6
4	EPOC	13,853	279.72	6.2
5	Cirrosis y otras Enf. crónicas del hígado	8,043	162.41	3.6
6	Enfermedades hipertensivas	7,788	157.28	3.5
7	Infecciones respiratorias agudas bajas	7,253	146.45	3.3
8	Desnutrición calórico proteica	6,231	125.82	2.8
9	Nefritis y nefrosis	6,060	122.37	2.7
10	Tumor maligno de tráquea, bronquios y pulmón	4,223	85.27	1.9
11	Tumor maligno de la próstata	3,560	71.88	1.6
12	Tumor maligno del estómago	2,951	59.59	1.3
13	Tumor maligno del hígado	2,667	53.85	1.2
14	Úlcera péptica	2,048	41.35	0.9
15	Anemia	2,047	41.33	0.9
16	Accidentes de tráfico de vehículo	1,771	35.76	0.8
17	Tumor maligno del páncreas	1,734	35.01	0.8
18	Enfermedades inf. intestinales	1,695	34.23	0.7
19	Tumor maligno del cuello del útero	1,653	33.38	0.7
20	Tumor maligno de colon y recto	1,534	30.98	2.9
	Causas mal definidas	6,576	132.78	26.6
	Las demás	59,466	1200.76	

\*Tasa por 100,000 habitantes. Fuente: INEGI/SSA, 2003 Disponible en: <http://www.salud.gob.mx>

## IV.2. DIABETES MELLITUS

La DM es una enfermedad sistémica, crónica degenerativa, de carácter heterogéneo con grados variables de predisposición hereditaria y con participación de diversos factores ambientales que se caracteriza por hiperglucemia crónica debido a la deficiencia en la producción de la insulina, o bien a la acción ineficaz de esta hormona, lo que afecta al metabolismo intermedio de los carbohidratos, proteínas y lípidos y a largo plazo se asocia con daño, disfunción y falla de varios órganos como son los ojos, riñones, corazón y vasos sanguíneos.<sup>20-21</sup>

Se ha clasificado como tipo 1, en la cual la mayoría de los casos se deben principalmente a la destrucción de los islotes de las células beta del páncreas, esto provoca la deficiencia en la producción de la insulina y la hiperglucemia crónica que puede corregirse con la administración de insulina, por lo que igual se ha denominado DM dependiente de insulina; y en DM2, en la que existe una capacidad residual de secreción de insulina pero los niveles no superan la resistencia que existe en los tejidos, por lo cual se manifiesta la hiperglucemia, este tipo de diabetes se inicia durante la etapa adulta y su incidencia se incrementa notablemente durante la vejez.<sup>20</sup>

En cuanto a su frecuencia entre la población mexicana, la Encuesta Nacional de Salud (ENSA) 2006 detectó una prevalencia de 7% en adultos de 20 años y más, observando mayor prevalencia entre los sujetos de 50 a 59 años (13.5%) y a partir de la sexta década la prevalencia es mayor (19.2%), 21.3% en mujeres y 16.8% en hombres. Así mismo en el 2001 la DM 2 fue reportada como la primera causa de muerte en la población general, se ha señalado como la causa más importante de amputación de miembros inferiores de origen no traumático así como de otras complicaciones como la retinopatía y la insuficiencia renal, siendo generadora de costos económicos altos asociados al tratamiento y las complicaciones.<sup>19,20</sup>

En lo que se refiere a la investigación se han desarrollado diversas líneas que pretenden explicar los mecanismos fisiopatológicos de esta enfermedad y sus complicaciones. Se ha

---

---

buscado comprender el mecanismo de la resistencia a la insulina (RI) como característica central de la DM2 y la terapia se encamina principalmente a reforzar la sensibilidad de los tejidos a esta hormona, sin embargo en el desarrollo de las complicaciones se han visto involucrados mecanismos como el EOX, la obesidad y el PIC.

#### IV.2.1 Diabetes Mellitus 2 y Resistencia a la Insulina

La principal causa de la hiperglucemia crónica característica de la DM2 es la RI, la cual se define como una respuesta biológica atenuada o disminuida en los tejidos aun en presencia de concentraciones normales o altas de insulina, de manera clásica esto se refiere a defectos en la sensibilidad a la insulina mediada por glucosa.<sup>22</sup>

La insulina es una hormona peptídica secretada por las células beta del páncreas, de manera normal realiza varias funciones como mantener los niveles plasmáticos de glucosa al facilitar su captura por las células en los diferentes tejidos, regula el metabolismo de los carbohidratos y los lípidos además de promover la división y el crecimiento celular a través de sus efectos mitogénicos. Su secreción se ve influida por sustancias nutrientes, como la glucosa, o por no nutrientes que actúan vía neural a través de estímulos colinérgicos o adrenérgicos o por hormonas y aminoácidos catiónicos.<sup>22,23</sup>

Ejerce sus funciones al unirse a su receptor el cual es un heterotetrámero que consiste en cuatro subunidades glucoproteicas, dos alfa y dos beta unidas por puentes disulfuro y se localiza en la membrana celular. La unión de la insulina a su receptor, inicia una cascada de señalizaciones que termina en la translocación del transportador de la glucosa a la membrana celular y con esto la glucosa entra a la célula; de forma breve al unirse la insulina a la subunidad alfa extracelular de su receptor, provoca un cambio conformacional que permite la unión de ATP a la subunidad beta intracelular del receptor; esto promueve su autofosforilación y le confiere la actividad de tirosina cinasa, por lo que se inicia la fosforilación en tirosina de las proteínas intracelulares llamadas sustrato receptor de insulina (IRS), las cuales poseen una región conservada que, una vez activadas les permite interactuar con otras proteínas intracelulares, como la fosfatidilinositol 3-cinasa (PIK3), la cual a su vez, entre otras acciones,

---

---

promueve la translocación del transportador de glucosa (GLUT) a la membrana celular, con la posterior entrada de glucosa. (Fig. IV.2.1.1)<sup>22-24</sup>

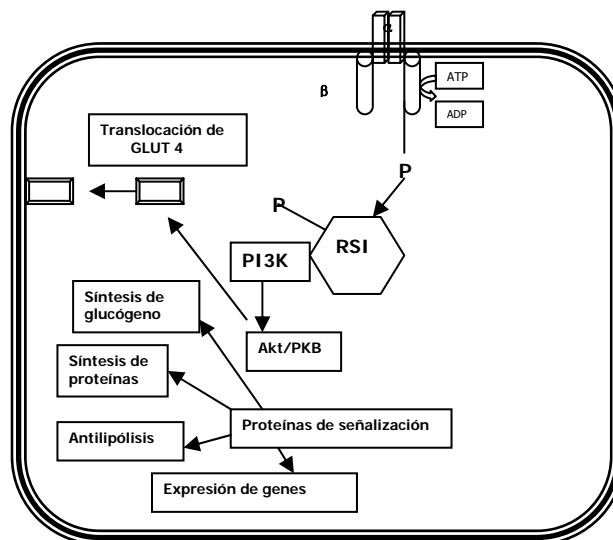


Figura IV.2.1.1. Representación esquemática de la señalización de la insulina implicada en la incorporación de la glucosa en las células.

Se ha propuesto que la RI es una manifestación de mala señalización secundaria a defectos celulares a nivel post-receptor, así como varios mecanismos como la disminución de la expresión del receptor como medida de retroalimentación negativa ante el exceso de insulina, deficiencias o polimorfismo genético en la fosforilación del receptor, del SRI, de las proteínas intracelulares que extienden la cascada de señalización o bien anomalías en la función del GLUT 4. (Fig. IV.2.1.2)<sup>24-25</sup>

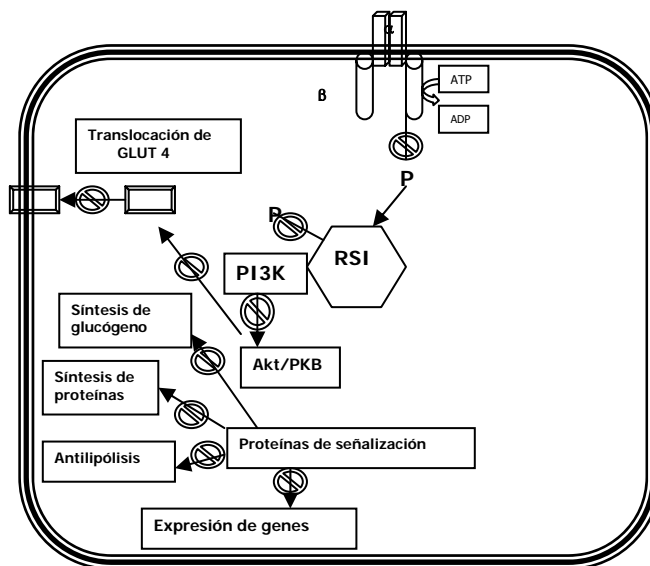


Figura IV.2.1.2 Presentación esquemática de las vías de señalización afectadas en la resistencia a la insulina.

La terapia se ha encaminado a fortalecer la sensibilidad de los tejidos a la insulina, sin embargo, a pesar de lograr avances importantes, las complicaciones de la DM como son las micro y las macroangiopatías se presentan de forma significativa en los pacientes y aun no se logra alcanzar el control adecuado para evitar las manifestaciones clínicas como son la retinopatía, la neuropatía, insuficiencia renal crónica, así como aterosclerosis e hipertensión arterial, cuya atención implican costos altos tanto a los servicios de salud como a las familias, por lo tanto es necesario comprender los mecanismos fisiopatológicos de esta enfermedad que como ya se ha señalado involucra a eventos como el EOX, el PIC y la actividad endocrina del tejido adiposo, los cuales se revisarán a continuación.<sup>26</sup>

#### IV.2.2. Estrés oxidativo y Diabetes mellitus

El EOx es un proceso caracterizado por un desequilibrio bioquímico entre la producción de RL o especies reactivas con respecto a los antioxidantes a favor de los primeros con implicaciones en la homeostasis del organismo por daño a nivel celular, tisular y sistémico. El EOx ha sido asociado con el mecanismo fisiopatológico de más de 100 enfermedades crónico-degenerativas, entre las que destacan la aterosclerosis, el cáncer, la artritis reumatoide, la enfermedad de Alzheimer y la DM.<sup>27-29</sup>

Químicamente, un RL se define como un átomo o molécula que en su último orbital presenta un electrón no apareado, por lo cual presenta una configuración espacial que le genera gran inestabilidad, es altamente reactivo, tiene una enorme capacidad para combinarse inespecíficamente, ya que precisa de obtener el átomo que le hace falta de las moléculas vecinas, y dependiendo de dónde y cuanto se genere puede estabilizarse tomando el electrón que requiere de las biomoléculas próximas a él, incluso aquellas integrantes de la estructura celular, sí esto sucede se puede afectar la fisiología de las células al oxidar a los lípidos de membrana, a los carbohidratos, a las proteínas e incluso al ADN, lo cual es uno de los mecanismos de daño del EOx.<sup>30-31</sup>

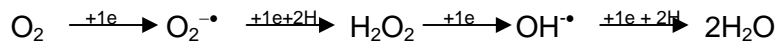
Sin embargo, los RL no son moléculas que deban considerarse estrictamente como dañinas, ya que se generan de manera natural y continua durante el metabolismo, el proceso

de respiración, en la fagocitosis, en las reacciones donde intervienen enzimas de la familia de las NADPH oxidasas (nicotinamida adenindinucleótido fosfato) asociadas al metabolismo del ácido araquidónico como la ciclooxigenasa, la lipooxigenasa, el citocromo P450 y como respuesta a la exposición a agentes exógenos como los rayos UV, radiaciones ionizantes, la contaminación ambiental, el humo de cigarrillo, el ejercicio excesivo entre otros.<sup>32-34</sup>

Los principales RL que se originan son los derivados de la respiración aerobia y se denominan especies reactivas de oxígeno (EROs), no obstante no son los únicos ya que también los hay derivados de nitrógeno y azufre aunque en menor proporción. Las ERO's se

---

forman por la reducción secuencial del oxígeno, lo cual origina primero al ión radical superóxido, posteriormente al peróxido de hidrógeno (que no es un radical como tal pero es una especie muy oxidante) y finalmente al radical hidroxilo que es el más reactivo de todos.<sup>30,32,33</sup>



El producto final de la cadena de reacciones, puede ser la molécula de agua, en cuyo caso hay menores posibilidades de daño al organismo; sin embargo considerando que éste es un sistema dinámico, es probable que se den otras interacciones bioquímicas que conduzcan a la generación y acumulación de RL en lugar de detoxificar a las células; condiciones como la presencia de iones metálicos reductores, compuestos derivados de nitrógeno o deficiencia en los donadores de electrones necesarios para remover o estabilizar a los RL puede causar un exceso de éstos (Figura IV. 2.2.1).<sup>30-31</sup>

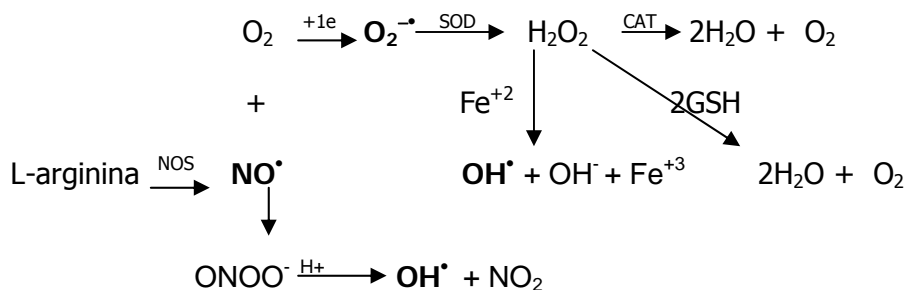


Figura IV.2.2.1. Interacciones entre los EROs y otras especies, generación de otros RL.

El medio por el cual el organismo contrarresta la acción potencialmente nociva de las especies oxidantes es el sistema antioxidante y su eficiencia depende de su capacidad de actuación tanto intra como extracelularmente. Así, un antioxidante se define como aquella sustancia que presente en bajas concentraciones en relación a un sustrato oxidable, previene o retarda la oxidación de tal sustrato. Los antioxidantes utilizan varios mecanismos de acción y en base a esto han clasificado en primarios y secundarios (Cuadro IV.2.2.1).<sup>35-36</sup>

Cuadro IV.2.2.1 Clasificación de los diferentes antioxidantes.

ANTIOXIDANTES PRIMARIOS	ANTIOXIDANTES SECUNDARIOS
Superóxidodismutasa (SOD)	Vitamina C
Glutación peroxidasa (GPx)	Vitamina E
Catalasa	Vitamina A y carotenos
Transferrina	Ácido úrico
Ceruloplasmina	Bilirrubinas
Albúmina	Albúmina
Metalotioneínas	Melatonina
	Estrógenos

Los antioxidantes primarios actúan en la prevención de la formación de los RL y en la captura de compuestos que propician su transformación en radicales más dañinos. Entre estos encontramos a los endógenos como las enzimas SOD, catalasa y GPx, la SOD dismuta al radical anión superóxido en peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), el cual a su vez es descompuesto por la catalasa o la GPx hasta agua; entre este tipo de antioxidantes también encontramos a las proteínas atraparoras de metales que evitan la interacción de los radicales ya formados con los cationes metálicos para proteger a las células de generación del radical más dañino que es el hidroxilo. Los antioxidantes secundarios actúan una vez formado el radical, evitan su propagación al cederle electrones y convertir a sí mismos en un radical menos reactivo y más fácil de eliminar, entre estos hay endógenos como los estrógenos, ácido úrico y bilirrubinas o exógenos como las vitaminas.<sup>36-37</sup>

Cuando se da un desequilibrio entre los oxidantes y los antioxidantes en favor de los primeros el resultado es EOx, y dado el exceso de especies reactivas, colisionan con las biomoléculas y de ellas sustraen el electrón que le hace falta oxidándolas. Si se trata de los lípidos se dañan las estructuras ricas en ácidos grasos como son las lipoproteínas y las membranas celulares, en el primer caso se da la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad, lo cual se ha reconocido como un paso inicial importante en el desarrollo de los ateromas, mientras que si la reacción es en la membrana se descompone su estructura



continua, se altera la permeabilidad y osmolaridad lo cual puede conducir a la muerte celular; es un proceso que se conoce como peroxidación lipídica, es una reacción de sustracción de electrones en cadena y genera numerosos subproductos que pueden determinarse en plasma por técnicas como la del ácido tiobarbitúrico.<sup>38-41</sup>

Si las especies reactivas actúan sobre las proteínas se oxidan preferentemente aminoácidos con estructura cíclica y como consecuencia se da entrecruzamiento de cadenas peptídicas, fragmentación de proteínas y formación de grupos carbonilo, con lo cual se impide el desarrollo normal de las funciones de las diversas proteínas, ya sea transportadoras, receptores, mensajeros celulares, enzimas, etc. En el caso de oxidación de la molécula de ADN se generan bases modificadas, rompimientos de cadena sencilla, lo cual tiene como consecuencia el desarrollo de mutaciones y carcinogénesis y puede relacionarse con la pérdida de expresión por daño a algún gen específico.<sup>38-41</sup>

Sin embargo, si el organismo se encuentra en condiciones óptimas es capaz de controlar los niveles de especies oxidantes, a través de los sistemas antioxidantes y lograr la homeostasis, los problemas se generan al perderse el equilibrio que propicia el desarrollo de enfermedades e incluso el envejecimiento. (Figura IV.2.2.2)<sup>27</sup>

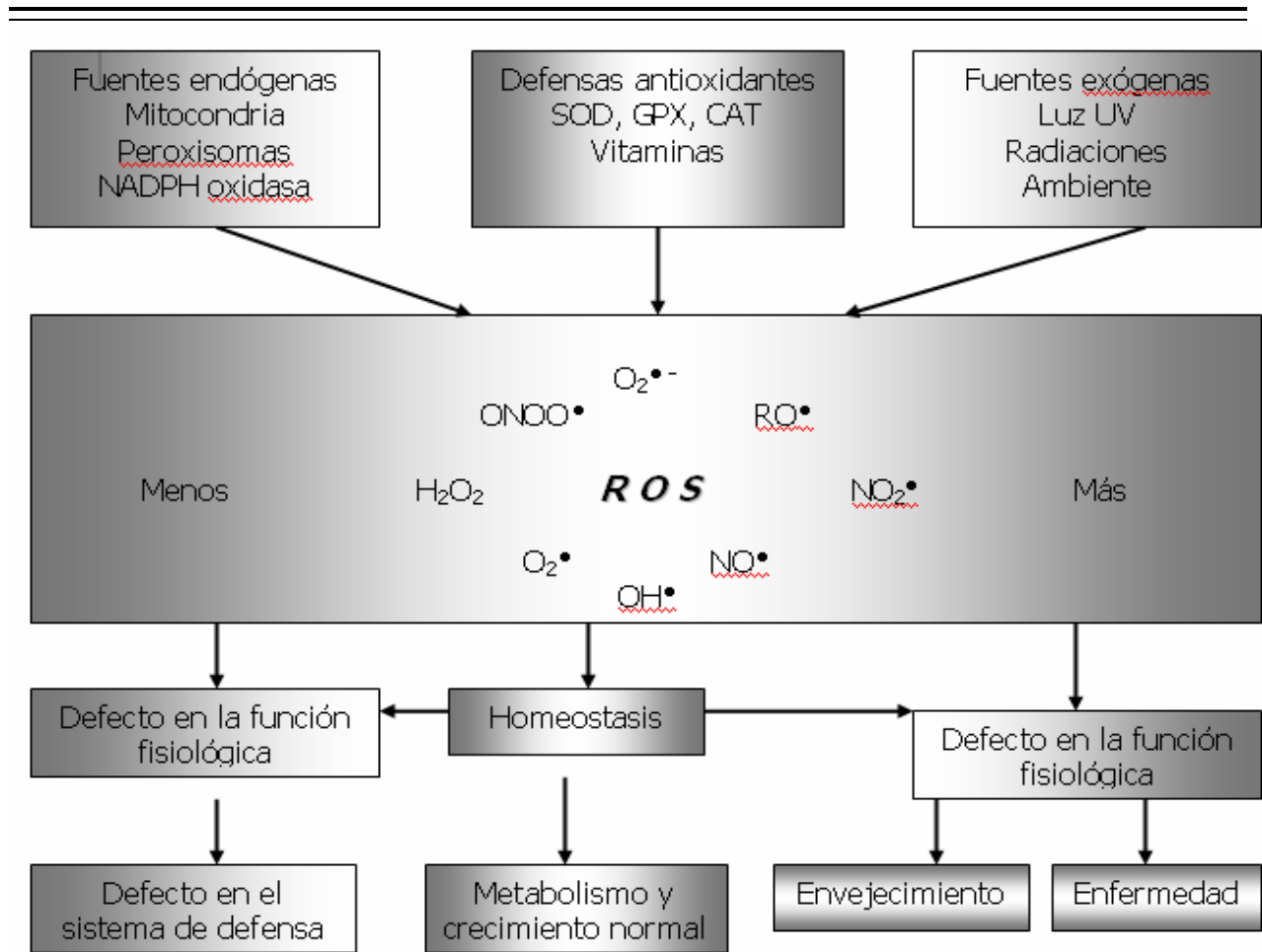


Figura IV.2.2.2. Estrés oxidativo, homeostasis y enfermedad. Tomado de Finkel y Holdbrok 2000.

El EOX es un proceso dinámico que se ha vinculado de forma notable con la DM2 ya que existen evidencias que muestran alteraciones en el equilibrio entre oxidantes y antioxidantes en los sujetos diabéticos. Se ha reportado una disminución en la actividad de los antioxidantes, e incremento de los productos de oxidación, el cual en algunos casos es detectable sólo con técnicas finas pero es evidente cuando existe mayor daño e incluso complicaciones. En este sentido, el EOX presente en los sujetos diabéticos se asocia con la hiperglucemia crónica que caracteriza a esta enfermedad, ya que ante un exceso de glucosa circulante se activan varias vías metabólicas no muy usuales en el organismo, lo que conduce a la generación de otros metabolitos entre los cuales se encuentran RL de oxígeno.<sup>42-47</sup>

Al respecto, se han descrito varias rutas metabólicas vinculadas con el EOX e implicadas en las complicaciones de la DM2, entre ellas encontramos la ruta del sorbitol (o de la aldosa-reductasa), la de la glucosilación no enzimática de proteínas, la autooxidación de la glucosa, la modificación de la actividad de la protein-quinasa C(PKC), la pseudohipoxia, el metabolismo alterado de lipoproteínas y la alteración vía citocinas.<sup>48-51</sup> De entre todas las mencionadas, las vías de la autooxidación de la glucosa, la del sorbitol y la glucosilación no enzimática de proteínas han sido las más estudiadas (Figura IV.2.2.3).

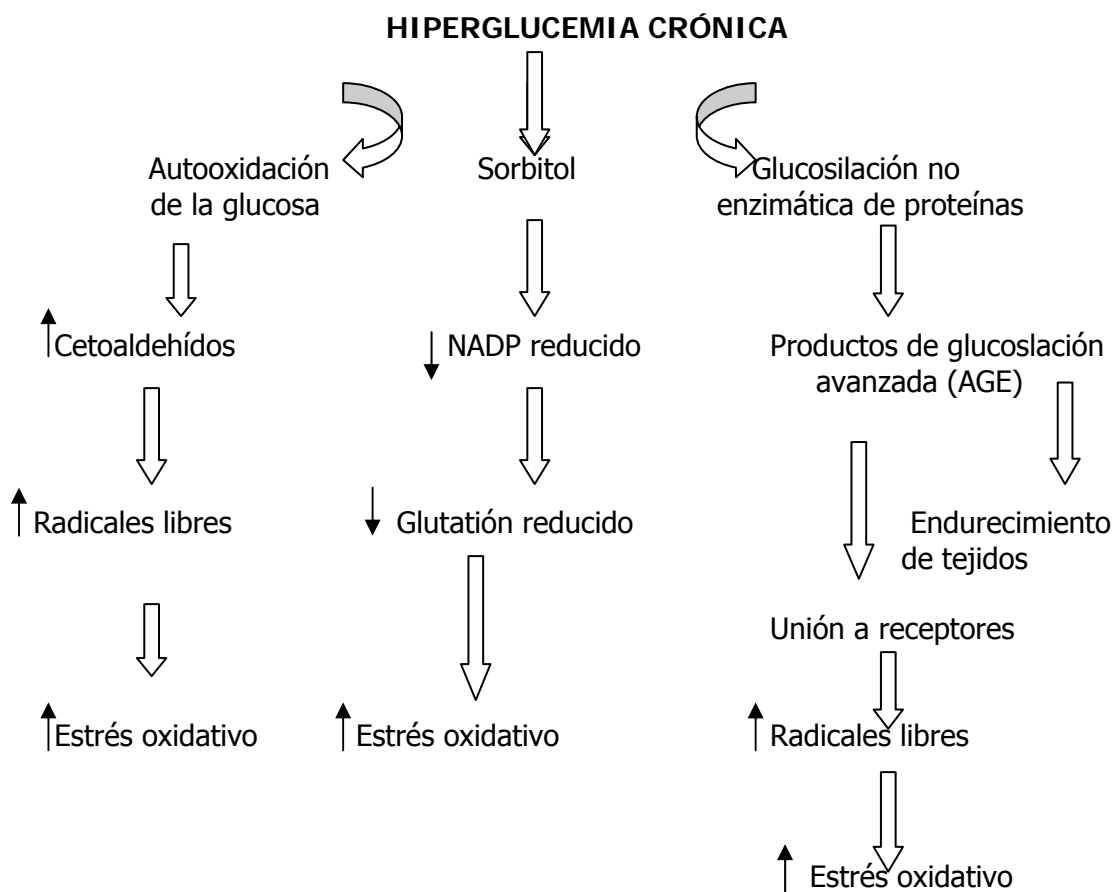


Figura IV.2.2.3 Principales vías metabólicas activadas por la hiperglucemia crónica vinculadas con el desarrollo de EOX en sujetos diabéticos.

Durante la autooxidación de la glucosa se generan productos oxidantes a partir de la enolización de la glucosa, de entre ellos se ha demostrado que el gliceraldehído en presencia de metales pesados, como el  $\text{Fe}^{+2}$ , puede formar el radical anión superóxido, y éste, como se

ilustra en la figura IV.2.2 1 puede ser convertido en agua a través de las enzimas antioxidantes o generar otros radicales más dañinos dependiendo de las condiciones.<sup>50</sup>

Con relación a la vía del sorbitol se propone que dados los niveles altos de glucosa circulantes en la sangre, se sigue la vía metabólica de la enzima aldosa reductasa, ésta es de baja afinidad a concentraciones normales de glucosa, genera sorbitol a partir de la glucosa y

utiliza al NADPH como cofactor. Dado que el potencial antioxidante del glutatión depende del suministro de NADPH (pues lo requiere para su regeneración) el flujo de este cofactor por otra vía como la del sorbitol altera el balance oxidantes-antioxidantes hacia el lado de los primeros propiciando EOX (Figura IV.2.2.4).<sup>51</sup>

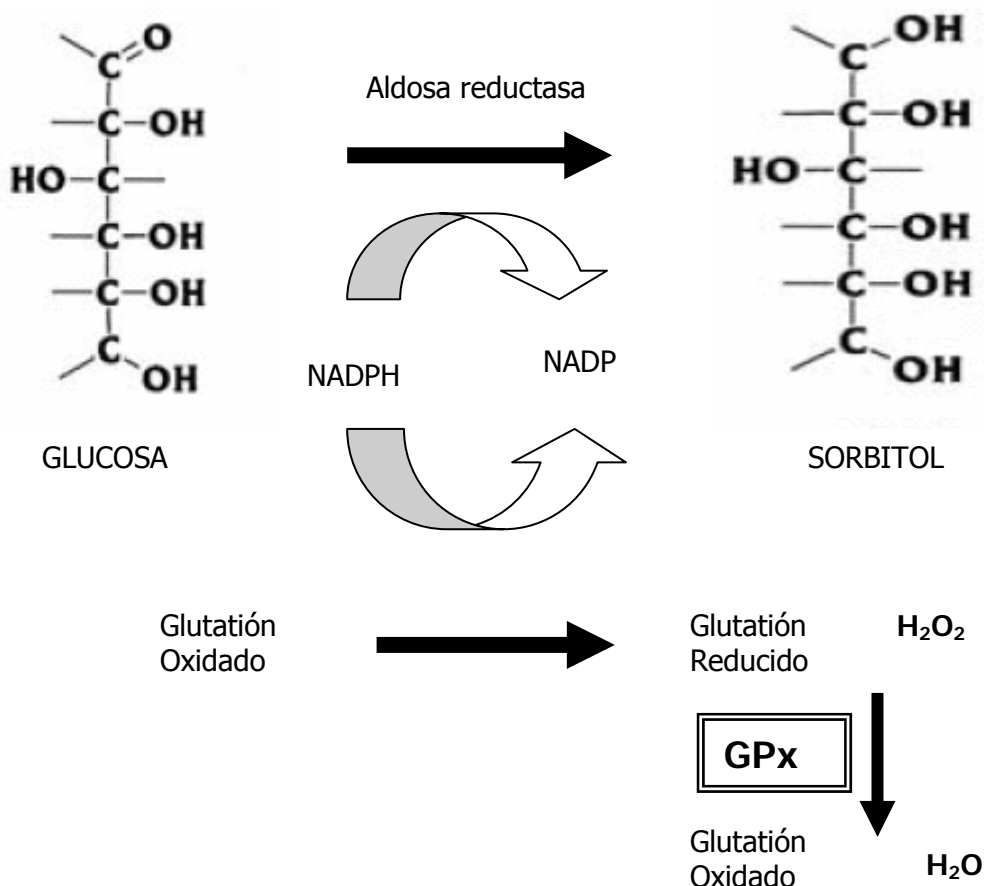


Figura IV.2.2.4. Vía del sorbitol activada por la hiperglucemia crónica, el flujo de los cofactores por la vía de la aldosa reductasa propicia EOX al alterar el equilibrio redox del glutatión.

Además, se ha demostrado que el sorbitol así generado tiene efectos sobre la fisiología de las células, aquellas que toman libremente la glucosa (y que contienen la enzima aldosa reductasa) como son el lente del cristalino, las neuronas, los glóbulos rojos y las nefronas sufren cambios osmóticos y en la permeabilidad por el incremento de sorbitol, propiciándose la opacidad en el cristalino, la disminución en la velocidad de conducción nerviosa, alteraciones de las funciones de la nefrona, que son complicaciones típicas de los pacientes diabéticos.<sup>51-54</sup>

Así mismo, la oxidación del sorbitol a fructosa por la sorbitol deshidrogenasa se acompaña con el incremento del ratio NADH/NAD<sup>+</sup> lo cual ha sido llamado "estrés reductivo" o "seudohipoxia hiperglucémica" puesto que los cambios redox generados son análogos a los que se presentan en la isquemia y las células lo detectan como hipoxia, lo cual propicia generación de especies reactivas. Además el incremento del NADH promueve la reacción catalizada por la gliceraldehído 3- fosfato deshidrogenasa (GADPH) la cual genera gliceraldehído 3-fosfato, que es un precursor del metilglioxal y del activador endógeno de la proteincinasa C; a partir del metilglioxal se generan AGE's (del inglés Advanced Glycosylation End Products) y la activación de la PKC tiene varios efectos. (Figura IV.2.2.5). Esta enzima regula diversas funciones vasculares al modular a su vez la actividad de otras enzimas como la fosfolipasa A2 citosólica y la Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPasa, o la expresión de genes de los componentes de matriz extracelular y proteínas contráctiles. Cuando no hay una adecuada regulación de la actividad de la PKC el resultado son anomalías vasculares incluyendo cambios en el flujo renal y retinal, así como en la contractilidad, permeabilidad y proliferación celular.<sup>51-55</sup>

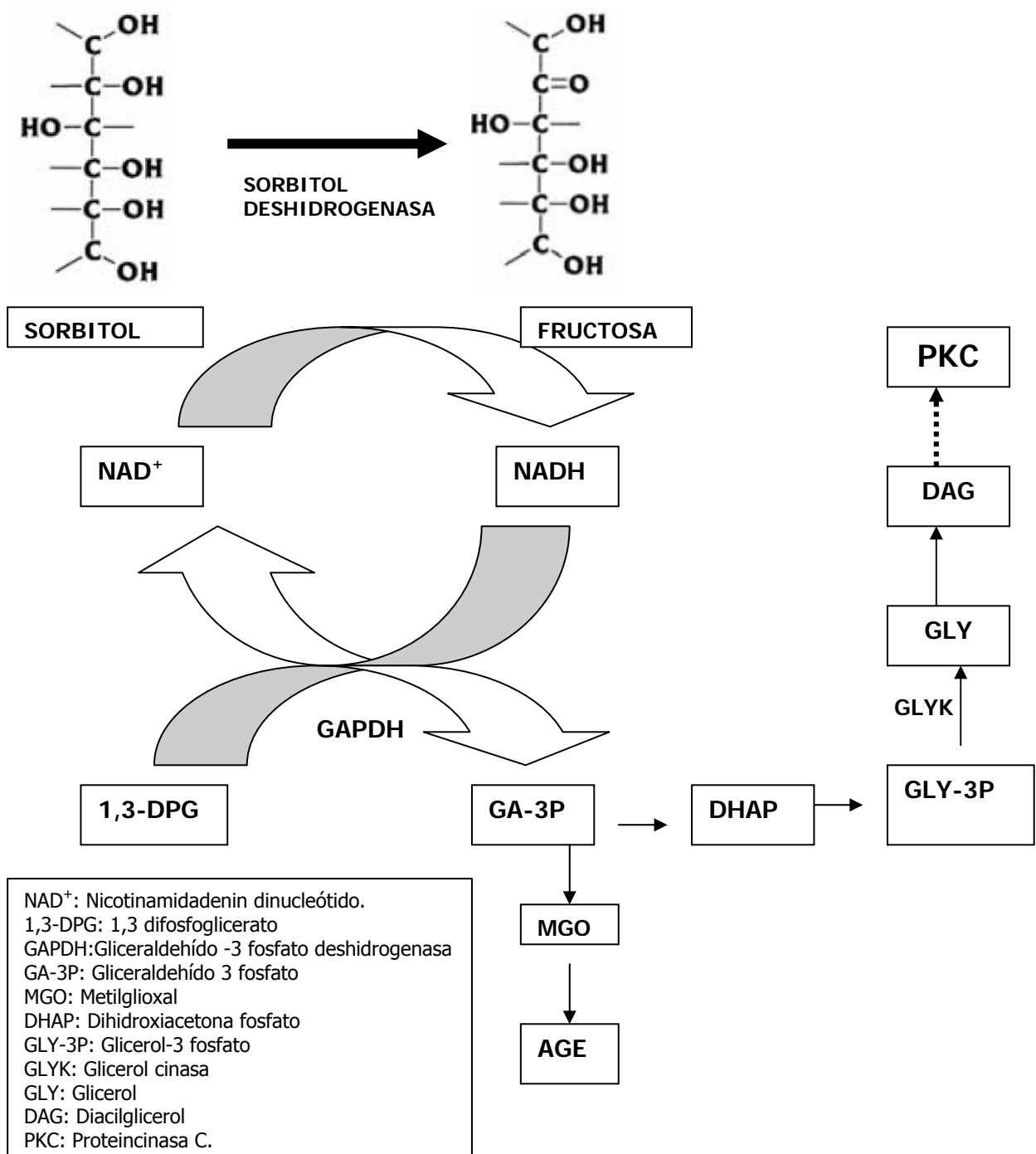
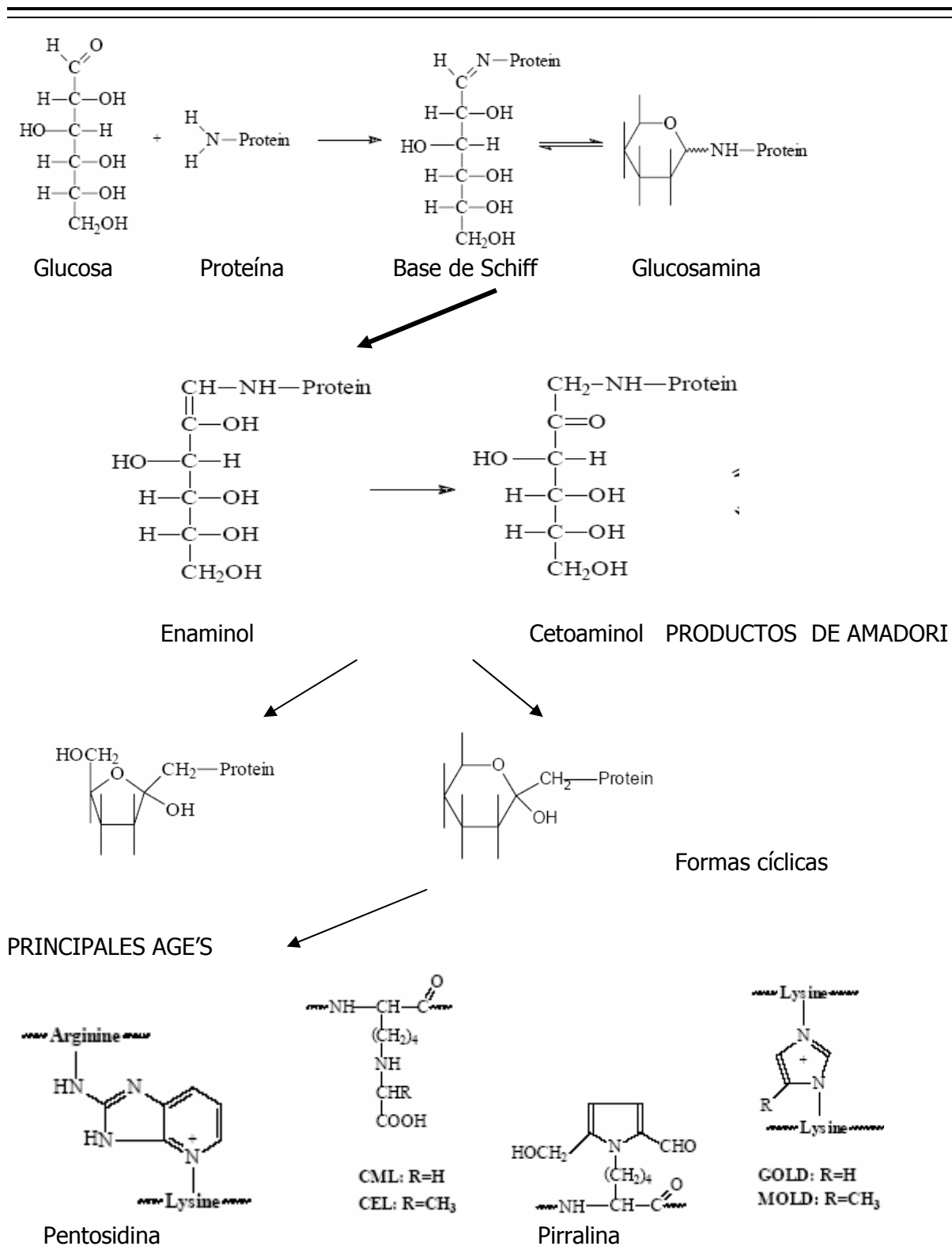


Figura IV.2.2.5 Inducción de pseudohipoxia y activación de la proteincinasa C por la vía de la aldosa reductasa ante la hiperglucemia.

Por otro lado, la glucosilación no enzimática de proteínas, también denominada glicatación o reacción de Maillard, es conocida desde hace mucho tiempo por su aplicación a la industria de los alimentos y tomó relevancia fisiológica cuando se descubrieron las partículas de hemoglobina glucosilada en sangre de sujetos sanos y su incremento en los diabéticos.<sup>51-52,56</sup> Químicamente hablando es una reacción que sucede en tres etapas, la primera se da por la adición de un grupo amino primario (de una proteína o de fosfolípidos) al grupo carbonilo del azúcar formándose una base de Schiff el cual es un compuesto poco estable. Si no disminuye la concentración de glucosa circulante puede avanzar hacia la segunda etapa de la reacción con la formación de un compuesto que se ha llamado genéricamente como compuesto de Amadori en el cual se da nuevamente un rearrreglo interno para mayor estabilidad pero que genera más carbonilos reactivos; hasta este punto la reacción es todavía reversible y puede regresar hacia la base de Schiff e incluso hasta la parte inicial si disminuye la concentración de glucosa. Sin embargo, si la reacción no se revierte, los grupos carbonilos de los productos de Amadori son capaces de reaccionar nuevamente con grupos amino de proteínas y originar moléculas más grandes por el entrecruzamiento del azúcar con otras proteínas (tercer etapa). Los compuestos así generados se han denominado productos finales de glucosilación no enzimática o AGE`s que son estructuras fluorescentes, que se forman lentamente en reacciones fuertemente desplazadas hacia la derecha, es decir hacia la formación de los productos y que se ven propiciadas por la presencia de oxígeno y metales reductores. Figura IV.2.2.6.<sup>57-59</sup>



CML: Carboximetil-lisina, CEL: Carboxietil-lisina, GOLD: Dímero de glicoxal-lisina, MOLD: dímero metilglicoxal-lisina

Figura IV.2.2.6. Glucosilación no enzimática de proteínas.



Esta reacción puede afectar la funcionalidad de las células, ya que la glucosilación afecta la actividad biológica de las proteínas, por medio de tres mecanismos generales: la modificación de proteínas extracelulares (de bajo recambio), el desencadenamiento de procesos intracelulares por unión a receptores extracelulares y alteraciones de proteínas intracelulares.<sup>37,40,41</sup> En los sujetos diabéticos, donde se reúnen las condiciones para que se generen los AGEs, se ha descrito la unión de éstos a receptores específicos del tipo de las gammaglobulinas, en la superficie celular de macrófagos, monocitos y células endoteliales, desencadenando la liberación de RL de oxígeno y EOx, lo cual se verá más adelante en detalle.  
51,58-61

Es así como la hiperglucemia crónica se ha vinculado con el EOx en los pacientes diabéticos, en los cuales se ha descrito niveles elevados de marcadores de oxidación, además de asociación con el control glucémico y los AGE`s.

Por otro lado, se ha vinculado al EOx con los niveles bajos de insulina en los pacientes diabéticos, ya que se ha demostrado que las células beta del páncreas no son inmunes al daño por los RL, así que ya instalada la enfermedad es posible que empeore la situación del sujeto diabético dado que disminuye la secreción de insulina en el páncreas por interferencia de los RL sobre el proceso normal de producción y secreción de insulina.<sup>50</sup>

#### IV.2.3 Inflamación y Diabetes Mellitus

Otro proceso fisiopatológico que ha sido asociado tanto a la DM como al envejecimiento es el PIC, el cual además de generar modificaciones per se, propicia otras alteraciones entre las cuales se encuentra el EOx, contribuyendo ambos procesos en el desarrollo de las macro y microangiopatías.<sup>62</sup>

La inflamación es una respuesta del organismo ante la exposición a agentes infecciosos, estímulos antigénicos o lesiones físicas que involucra a los sistemas nervioso, vascular e inmunológico. Inicialmente tiene una función homeostática de protección o defensa que se caracteriza por rubor, dolor, tumefacción, edema y falta de función en la zona afectada, no

---

---

obstante si el proceso es ineficiente y se cronifica, se transforma en un proceso fisiopatológico que favorece el incremento de RL y consecuentemente EOx.<sup>63,64</sup>

En la inflamación participan tanto elementos celulares como humorales, actúan las células endoteliales del tejido dañado o próximo a la lesión así como las células efectoras de la respuesta inmune cuya actividad es coordinada y regulada por citocinas y por otros mediadores que pueden ser liberados por células del sistema inmunitario o bien producidas por sistemas enzimáticos plasmáticos entre los que están el sistema de las cininas, el de la coagulación, el fibrinolítico y el del complemento.<sup>64,65</sup>

El mecanismo es complejo e implica una sucesión de eventos en el que participan los elementos ya mencionados, coordinados y dirigidos a controlar o reparar el daño. Una vez que se ha generado la lesión se produce vasodilatación como respuesta a la acción de mediadores pre-sintetizados que son liberados por las células del tejido implicado, esta vasodilatación aumenta el volumen de sangre en la zona y disminuye su flujo, esto explica el calor y el rubor en la lesión. Asimismo, se incrementa la permeabilidad vascular propiciando edema y la extravasación de leucocitos que contribuyen a la tumefacción. Los sistemas de cininas, coagulación y fibrinolítico se activan cuando los vasos exudan líquido proveniente de la sangre circulante, muchos de los cambios vasculares locales se deben a la acción de enzimas plasmáticas mediadoras como la bradiginina y los fibrinopéptidos, que inducen vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular. Las anafilotoxinas del complemento (C3a, C4a y C5a) inducen desgranulación de los mastocitos que se encuentran en la zona de reacción con liberación de histamina, la cual produce vasodilatación.<sup>65,66</sup>

Ante los cambios vasculares, las células endoteliales expresan moléculas de adhesión por lo que los neutrófilos se les unen y emigran desde la sangre hacia el sitio de reacción, una vez unidos y activados por los mediadores locales o incluso por el patógeno en caso de infección, liberan agentes quimiotácticos que atraen a los macrófagos los cuales incrementan la fagocitosis y la liberación de mediadores y citocinas, entre las que se encuentran la IL-1, la IL-6 y el FNT- $\alpha$ , (las cuales promueven a nivel local la coagulación para limitar la extensión de la reacción al tejido próximo e incrementan la permeabilidad vascular). La IL-1 y el FNT- $\alpha$  inducen el aumento

---

---

de la expresión de moléculas de adherencia sobre las células endoteliales, posteriormente los neutrófilos, los monocitos y los linfocitos que reconocen estas moléculas se adhieren y luego pasan a través de la pared vascular hacia los espacios tisulares; aunque estos no son sus únicos efectos.<sup>65-67</sup>

El proceso inflamatorio puede ser agudo o crónico; el agudo se acompaña de una respuesta sistémica conocida como reacción de fase aguda, la cual se caracteriza por inducción de fiebre, incremento de la síntesis de algunas hormonas, leucocitosis y elaboración de proteínas de fase aguda por el hígado. La PCR es el prototipo de una proteína de fase aguda, se fija a la membrana del patógeno, activa al complemento provocando el depósito de la opsonina C3b sobre el mismo con lo que facilita su fagocitosis por las células que expresan receptor para esta opsonina.<sup>66</sup>

Muchos efectos generales de esta fase aguda se deben a la acción combinada de las IL-1, IL-6 y el FNT- $\alpha$ , ya que las tres citocinas actúan sobre el hipotálamo para inducir la reacción febril. Asimismo, la IL-6 y el FNT- $\alpha$  promueven que los hepatocitos sintetizen proteínas de fase aguda y el FNT- $\alpha$  además actúa sobre células endoteliales vasculares y sobre los macrófagos para inducir la secreción de factores estimulante de colonia, con lo que se promueve la hematopoyesis y el incremento transitorio de los leucocitos requerida en la reacción.<sup>66-67</sup>

Por otro lado, es importante mencionar que la reacción aguda puede ocurrir sin la participación manifiesta del sistema inmune, sin embargo la quimiotaxis y la migración de los leucocitos hacia la zona de lesión es conveniente, ya que estas células participan en la depuración del antígeno y en la reparación del tejido dañado con lo cual se vería controlada y limitada la reacción inflamatoria, lo cual es fundamental para reducir o reparar el daño, ya que una reacción inflamatoria prolongada o crónica se transforma en un proceso fisiopatológico, caracterizado por la persistencia de un antígeno, la sobreproducción de citocinas y la autodestrucción de los tejidos, con alto riesgo de que se desarrolle una enfermedad autoinmune.<sup>63, 66,67</sup>

---

En este sentido, uno de los cambios que ocurren en el envejecimiento es el desarrollo de un estado de inflamación crónica, el cual se asocia con la mayoría de los padecimientos crónicos más frecuentes en esta etapa los cuales implican alteraciones en el sistema inmune, pero que también se presenta en sujetos mayores sanos, al respecto se ha propuesto que en el envejecimiento este proceso constituye una respuesta altamente compleja ante varios estímulos inflamatorios internos y ambientales mediada en gran parte por el incremento de las citocinas proinflamatorias, que propician liberación de especies reactivas, favoreciendo el EOX que a su vez es una fuente de perpetuación del proceso inflamatorio al estimular constantemente la liberación de citocinas. Se ha propuesto que este proceso inflamatorio crónico asociado al envejecimiento se caracteriza por presentarse en grado bajo, controlado, asintomático, crónico y sistémico de modo que puede causar daño de manera prolongada y por supuesto verse potenciado si existe alguna enfermedad.

Al respecto recientemente se ha señalado una relación fisiopatológica entre la DM2 con el PIC, principalmente por dos mecanismos, uno vinculado con la obesidad y la actividad endocrina del tejido adiposo y el otro que implica el desarrollo de la respuesta inmune por desconocimiento de los AGE's generados a causa de la reacción de glucosilación no enzimática de proteínas, adelante se revisarán con más detalle.<sup>57, 72,73</sup>

#### IV.2.3.1. Inflamación y AGE's

Los AGE's como ya se ha mencionado son productos de la glucosilación no enzimática, aquí nos hemos referido a los productos de las proteínas sin embargo también los hay de lípidos y ADN, y se forman de manera tiempo dependiente en un ambiente pro-oxidante, especialmente cuando las moléculas se recambian de forma lenta y el nivel de aldosas se mantiene elevado. Al principio se pensó que la glucosilación de macromoléculas era una marca sobre las proteínas senescentes para su subsecuente eliminación por los macrófagos; los receptores a los que se unen se consideraban como limpiadores (scavengers) implicados en la eliminación y la regeneración celular; la eliminación defectuosa se pensaba como un factor importante en el envejecimiento y en el desarrollo de algunas enfermedades, sin embargo, se ha puesto en evidencia que la unión de los AGE's a su receptor no precisamente aceleran su

---

---

eliminación, si no que inducen una señalización sostenida post-receptor incluyendo la activación de moléculas, enzimas y factores de transcripción como el factor nuclear kapa B (FN- $\kappa$ B) y las MAP cinasas, esto ha hecho necesaria la revisión e investigación para la comprensión de los AGE's, su receptor y su papel en el desarrollo de las enfermedades así como de las complicaciones, cuestión notable en el caso de la DM2.<sup>74</sup>

Se ha señalado que existe un sistema complejo de proteínas que unen AGE's, los receptores scavenger 1 y 2, los AGE-R1, R2 y R3 y el RAGE este último vinculado con el EOX y el desarrollo de enfermedades y complicaciones en el caso de la DM, mientras los anteriores participan en la destoxificación y eliminación de los AGE's, así como en la modulación de las propiedades celulares por señales de transducción secundarias a la unión del ligando.<sup>75</sup>

El RAGE es un multiligando miembro de la superfamilia de las inmunoglobulinas, moléculas de superficie celular cuyos ligandos incluye a los AGE's y moléculas vinculadas con el desarrollo de diferentes enfermedades crónicas e inflamatorias como la enfermedad de Alzheimer y la amiloidosis sistémica.<sup>74-76</sup>

El gen que codifica para este receptor se encuentra en el cromosoma 6 próximo al locus del sistema HLA y al complejo MHCIII. Se compone de tres regiones tipo inmunoglobulinas, extracelularmente presenta un dominio V y dos tipo C, seguido de una región transmembranal corta y un extremo intracelular de 43 aminoácidos. El dominio tipo V es la región de unión al ligando mientras el extremo citoplasmático es crucial para la señalización intracelular, el análisis estructural del receptor ha revelado que reconoce estructuras tridimensionales más que secuencias de aminoácidos por lo cual entre sus ligandos están los AGE's, péptidos  $\beta$  amieloides, calgranulinas y las proteínas HMGB1 las cuales son liberadas por las células en necrosis, ligandos que se han identificado como moléculas que participan de forma activa en las respuestas crónicas inflamatorias e inmunes.<sup>74,76</sup>

La unión de los AGE's a su receptor resulta en señalización intracelular la cual lleva a la activación del factor de transcripción proinflamatorio NF- $\kappa$ B; el cual, en las células en reposo se encuentra inactivo en el citoplasma unido a la molécula inhibitoria I $\kappa$ B $\alpha$ , tras la activación, esta

---

---

molécula es fosforilada y degradada lo cual resulta en la liberación y translocación del NF- $\kappa$ B al núcleo, una vez dentro, este factor se une al ADN y activa los genes blanco que regula, entre los que están los de las citocinas proinflamatorias, moléculas de adhesión, ERO's, productos protrombóticos y vasoconstrictores, el RAGE mismo, así como la molécula inhibitoria I $\kappa$ B $\alpha$ .<sup>74-77</sup>

Una característica de la activación del RAGE es que puede autoprolongarse; una vez activado el FN- $\kappa$ B por fosforilación de la unidad inhibidora  $\alpha$ , se da síntesis de novo tanto del FN- $\kappa$ B como de la unidad inhibidora, sin embargo la cantidad del inhibidor no es suficiente para retener al FN- $\kappa$ B de modo que éste permanece desinhibido y se genera una activación sostenida, entonces, dado que la expresión del RAGE es inducida por el FN- $\kappa$ B se da un incremento de la expresión del receptor manteniéndose y amplificándose la señal.<sup>74</sup> (Figura IV.2.3.1)

Este estímulo constante es el que promueve los niveles elevados de las citocinas, las cuales como ya se mencionó dirigen la reacción inflamatoria al promover la síntesis de otros factores, moléculas de adhesión y proteínas de fase aguda, lo cual propicia alteraciones endoteliales que propician el desarrollo de las micro y macroangiopatías, además del EOX, ya que desde las células endoteliales, monocitos y macrófagos se liberan altas concentraciones de ERO's los cuales también estimulan la activación del FN- $\kappa$ B, pues la mayoría de los agentes que activan al NF- $\kappa$ B son modulados por EROs o por pro-oxidantes, por lo que algunos investigadores sugieren que las EROs son mediadores fisiológicos indispensables para desencadenar las reacciones que llevan a la respuesta inflamatoria, de modo que en este entorno, la reacción puede prolongarse y promover las complicaciones, además de alterar la sensibilidad de los tejidos a la insulina, como se verá más adelante.<sup>77-81</sup>

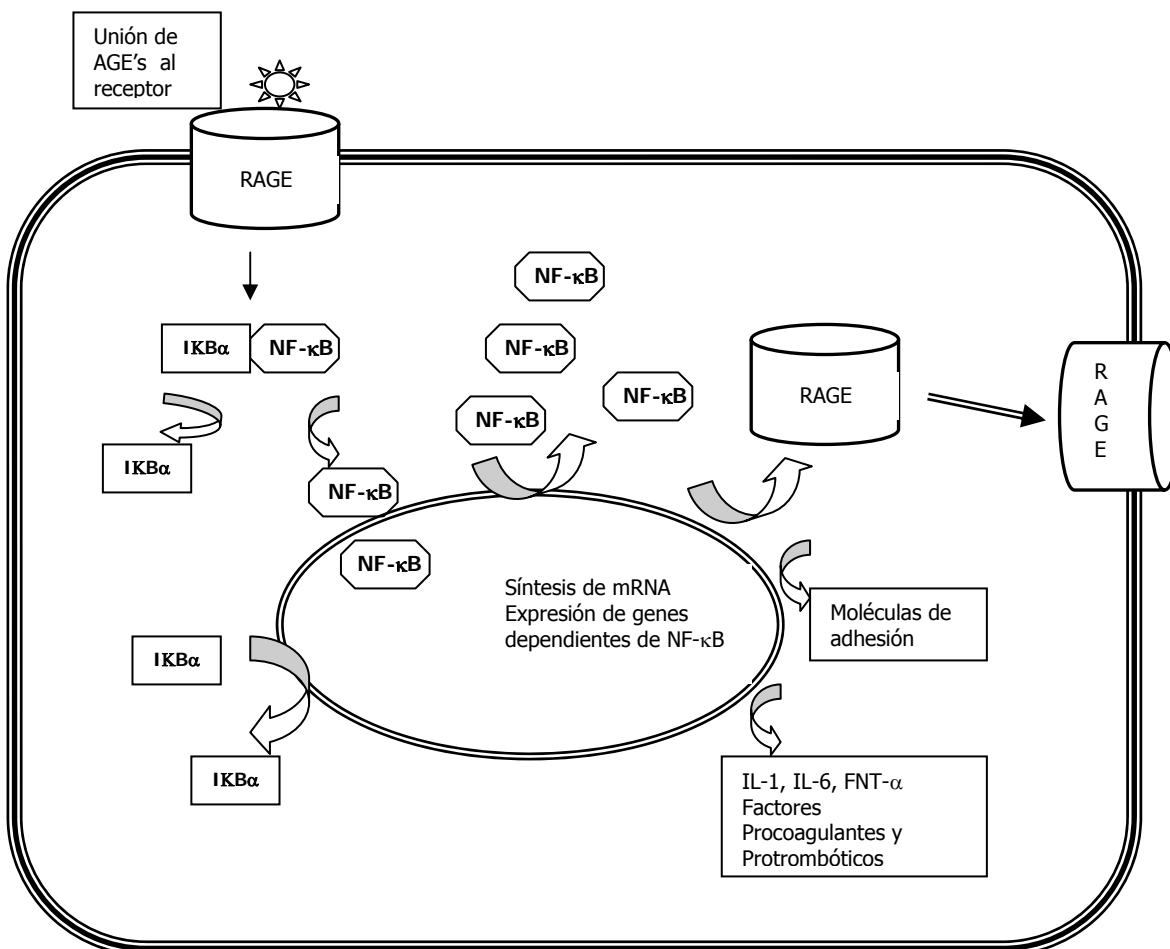


Figura IV.2.3.1 Respuesta inflamatoria inducida por la unión de los AGE's a su receptor, la activación del FN-κB promueve la liberación de citocinas proinflamatorias, factores procoagulantes y trombóticos, moléculas de adhesión además de su propia síntesis, la de su inhibidor y la del RAGE, las citocinas y factores liberados pueden a su vez estimular a las células efectoras del sistema inmune con incremento en las ERO's, las cuales activan al FN-κB, generándose así una reacción celular sostenida por estímulo continuo de los AGE's, de citocinas proinflamatorias y de las ERO's sobre el FN-κB.

#### IV.2.3.2 inflamación y tejido adiposo: Adipocinas

Como ya se mencionó, otro de los mecanismos implicados con la DM y el PIC es la obesidad, recientemente se ha logrado una mejor comprensión de la relación entre la obesidad y el desarrollo de enfermedades gracias al estudio de las características y funciones del adipocito, constituyente básico del tejido graso, incrementado en la obesidad. Hasta hace algunos años se consideraba al adipocito como una célula cuya primordial función era la acumulación de reservas energéticas, sin embargo se ha llegado a reconocer que el tejido adiposo además de reserva actúa como una glándula endocrina de actividad intensa que regula e interviene en una gran cantidad de procesos a diferentes niveles en el organismo.<sup>82-83</sup>

El tejido adiposo está involucrado en la regulación del apetito y la saciedad, en la inflamación y el metabolismo de los lípidos y la glucosa; juega un papel relevante en la regulación de la reproducción, la presión arterial, la fibrinólisis, la coagulación y la angiogénesis ya que es capaz de responder a estímulos sistémicos como a la insulina, a los mediadores de la respuesta inflamatoria y catecolaminas. Está en constante comunicación con otros sistemas incluyendo al sistema nervioso central, el sistema inmune y el cardiovascular, ya que produce una gran variedad de sustancias entre las que se encuentran hormonas, citocinas, factores de crecimiento, enzimas, factores del complemento, proteínas de matriz extracelular, todas ellas llamadas genéricamente como adipocinas, ante las cuales el adipocito es capaz de responder ya que expresa receptores para la mayoría de ellas, entre las hormonas sintetizadas por el adipocito están la leptina, la adiponectina, la resistina, la adipsina; las citocinas proinflamatorias IL-6 y FNT- $\alpha$ , además de factores de crecimiento, enzimas involucradas en el metabolismo energético, factores del complemento y proteínas de matriz extracelular.<sup>82-86</sup>

En cuanto a las hormonas, en relación a la leptina, esta es una proteo-hormona de cadena sencilla la cual juega un papel muy importante en la regulación de la ingesta de alimentos, el peso corporal, el gasto energético, la termogénesis y tiene funciones neuroendocrinas. Es el producto del gen *ob*, también llamado *lep* y fue descubierta en 1994, se produce principalmente por los adipocitos diferenciados, aunque se ha demostrado su

---

---



producción en menor escala en otros órganos y tejidos, tal como el fondo del estómago, el músculo esquelético, el hígado y la placenta. Actúa principalmente en el sistema nervioso central, en particular en el hipotálamo ya que suprime la ingesta de alimentos al inhibir al neuropeptido "Y" además de estimular el gasto de energía.<sup>87-91</sup>

Su ausencia, a causa de la mutación del gen que la codifica, provoca en los ratones homocigotos ob/ob obesidad severa, hiperfagia, hiperglucemia, hiperinsulinemia, resistencia a la insulina, esterilidad e hipotermia; es sintetizada en proporción a la cantidad de lípidos almacenados, por lo cual ha sido propuesta como un factor lipostático regulador del balance energético a través de un mecanismo de retroalimentación negativa originado en los depósitos del tejido adiposo y actuando en los centros cerebrales, por medio de receptores específicos localizados en el hipotálamo.<sup>90-94</sup>

Se consideró una posibilidad para tratar la obesidad ya que su administración a los ratones obesos generaba pérdida de peso, pero con el descubrimiento de un sistema de transporte saturable hacia el cerebro se concluyó la existencia de resistencia a la leptina, lo cual se traduce en hiperleptinemia con efectos en todas las funciones en que interfiere de manera normal. La leptina tiene efectos periféricos directos en varios tejidos y puede estar implicada en la secreción y acción de la insulina independientemente de sus efectos en la regulación del peso corporal. Los niveles basales de leptina y las concentraciones de insulina correlacionan de forma directa entre sí, la insulina y la glucosa parecen incrementar la secreción de leptina, mientras que la leptina por su parte incrementa la sensibilidad periférica a la insulina y disminuye su secreción desde las células beta pancreáticas. Así mismo incrementa la captura y oxidación de glucosa en el músculo esquelético y suprime la liberación de glucosa hepática.<sup>95-96</sup>

En cuanto al metabolismo de los lípidos la leptina ejerce una acción anti lipogénica y pro-oxidativa en los tejidos, lo cual es resultado de varias acciones combinadas, por un lado disminuye la expresión de enzimas y factores de transcripción lipogénicos, por lo que disminuye la síntesis de triglicéridos, mientras incrementa la expresión de enzimas y factores oxidantes, con esto genera cambios en las cascadas de señalización y promueve el incremento de la

---

---

oxidación de ácidos grasas en la mitocondria donde igual induce la biogénesis, de modo que en general reduce la lipotoxicidad y por tanto contribuye al incremento de la sensibilidad a la insulina en el hígado, en el músculo y en los tejidos sensibles a la insulina. De modo que las alteraciones en los niveles y actividad de la leptina han sido vinculadas de forma importante con la obesidad y la DM por su importante participación en el metabolismo de la insulina, carbohidratos y lípidos.<sup>95-98</sup>

Así mismo, se ha señalado que la leptina ejerce efectos importantes en la respuesta inmune. Esto se supuso por el hecho de que estructuralmente tanto la leptina como su receptor son análogos a las citocinas, la leptina pertenece a la familia de las citocinas helicoidales y es muy parecida a la IL-2, IL-6 y a la IL-15. Su receptor presenta una secuencia de aminoácidos análoga a la de los receptores de citocinas y se ha mostrado que aunque se presenta con mayor densidad en el hipotálamo, también lo expresan células hematopoyéticas y células efectoras de la respuesta inmune.<sup>96,99</sup>

Por otro lado, el síndrome que presentan los ratones ob/ob y a los db/db (que carecen del receptor para la leptina) no sólo se caracteriza por obesidad, sino que también implica función reproductiva anormal, desbalances hormonales y alteraciones en los sistemas hematopoyéticos e inmune, e implica un estado análogo a la inanición. La hipoleptinemia asociada a la deficiencia genética o a la inanición está asociada con inmunodeficiencia y sensibilidad incrementada a infecciones mediadas por las células T, en los humanos con deficiencia genética y en los modelos animales se corrige con la administración de leptina. Los cambios endocrinos en la inanición incluyen la supresión de la función tiroidea y reproductiva así como los estímulos sobre el eje hipotálamo-pituitaria-adrenal.<sup>99</sup>

Diferentes tipos celulares implicados en la respuesta inmune presentan la forma larga del receptor para la leptina, por lo que ésta puede estimular a tales grupos celulares, la leptina altera el balance de las citocinas derivadas de las células T, a favor de la respuesta Th1, in vivo regula la inflamación al inhibir la respuesta mediada por monocitos/macrófagos afectando la inflamación mediada por linfocitos y también induce e incrementa la proliferación de diferentes tipos celulares, incluyendo linfocitos, células CD34+ y células endoteliales.

---

---

La leptina también actúa como inhibidor de la apoptosis inducida por glucocorticoides en los linfocitos T y de la apoptosis inducida por citocinas en las células leucémicas. El efecto antiapoptótico combinado con el efecto estimulador de la proliferación de los linfocitos T parece ser el responsable de la atrofia linfoide observada en los modelos deficientes de leptina o en los estados de desnutrición o inanición. Sin embargo, los resultados de los estudios realizados en humanos para evaluar el papel regulador de la inflamación y la respuesta inmune aun son controversiales, algunos autores señalan que correlaciona con los niveles de citocinas proinflamatorias, mientras otros no han encontrado relación y suponen que los resultados negativos se deben a que esta hormona trabaja en coordinación con otras citocinas, por lo tanto las investigaciones en este campo aun siguen desarrollándose.<sup>99-101</sup>

Por otro lado, en relación a la adiponectina, esta es una proteína de 30 KDa producida exclusivamente por los adipositos durante la diferenciación y se ha señalado una relación inversa entre su expresión y el índice de la masa corporal (IMC), los niveles plasmáticos de glucosa, insulina y triglicéridos. Se ha determinado que las concentraciones séricas de adiponectina incrementan ante la pérdida de peso y que tiene un efecto benéfico o protector ya que incrementa la sensibilidad a la insulina y regula el metabolismo de los triglicéridos.<sup>83,87,102-103</sup>

La adiponectina disminuye la expresión de enzimas reguladoras de la gluconeogénesis como la glucosa-6-fosfato oxidasa y la fosfoenolpiruvatocarboxinasa, con lo que contribuye a la regulación de los niveles de glucosa, además de que se ha observado in vitro que incrementa el transporte de glucosa hacia las células, por lo que disminuye los niveles plasmáticos de este carbohidrato. En cuanto a los lípidos, regula el metabolismo de los triglicéridos a través del control de la producción o activación de las proteínas asociadas con el metabolismo de los lípidos como la acetil coenzima A oxidasa, la 5` proteín cinasa activada y el receptor activado del proliferador de peroxisomas-  $\gamma$ . (PPAR- $\gamma$ ). Se ha reportado que la adiponectina disminuye la síntesis de lípidos y la liberación de glucosa en el hígado, por lo que disminuye la concentración de ambos en el torrente sanguíneo, también puede incrementar la sensibilidad del hepatocito a la insulina por acción directa o indirecta al disminuir la concentración de lípidos circulantes, de modo que propicia un incremento de la tolerancia a la glucosa, sin embargo su concentración

---

---

disminuye cuando hay obesidad, por lo cual todos los efectos protectores se ven disminuidos ante el aumento de la masa adiposa.<sup>87, 104-106</sup>

Además de interferir en el metabolismo de carbohidratos y lípidos, se ha señalado que la adiponectina tiene algunas funciones en el sistema inmune, interfiere en la señalización del FN- $\kappa$ B inducida por el FNT- $\alpha$  en las células endoteliales e inhibe la actividad fagocítica de los macrófagos, así mismo inhibe la expresión de las moléculas de adhesión V-CAM, I-CAM y E-selectina, la cual es desencadenada por citocinas proinflamatorias como el FNT- $\alpha$ , cuya producción en los macrófagos es suprimida por la adiponectina. La adiponectina se considera una adipocina anti-inflamatoria e inductora de sensibilidad a la insulina, sin embargo los niveles bajos se ven disminuidos en la obesidad y se asocian con el desarrollo de desórdenes metabólicos y vasculares, por lo cual su estudio es importante para la comprensión de la fisiopatología de enfermedades.<sup>104, 105,107-108</sup>

Por otro lado, en relación a las citocinas se ha demostrado que el adiposito sintetiza y secreta las citocinas proinflamatorias IL-6 y el FNT- $\alpha$ .<sup>82-83</sup>

La IL-6 se considera una citocina inducida por el estrés, es un mediador inflamatorio con efectos pleiotrópicos en una variedad de tejidos, incluida la estimulación de la síntesis de las proteínas de fase aguda y la termogénesis junto con un incremento en la actividad del eje hipotálamo-pituitaria. Se ha reportado que la concentración plasmática de esta citocina es proporcional a la masa adiposa corporal, se estima que aproximadamente una tercera parte del total circulante se produce en los adipocitos; la IL-6 que se produce en la grasa omental llega al hígado donde promueve la secreción hepática de triglicéridos, contribuyendo a la hipertrigliceridemia, además de que estimula de la síntesis de proteínas de fase aguda como la PCR. Es considerada un regulador autocrino y paracrino de la función de los adipositos además de tener efectos endocrinos.<sup>85-86,109</sup>

Además de participar activamente en el proceso inflamatorio como ya se describió previamente, la producción de la IL-6 se ve incrementada en la hiperglucemia como efecto del estímulo de las AGE's sobre el RAGE a través del FN- $\kappa$ B lo cual propicia un estado crónico de

---

---

inflamación y EOX, además de que existen evidencias de que esta citocina inhibe la señal de transducción de insulina en el hepatocito, efecto que se ha visto relacionado con el supresor de señalización de citocinas SOCS-3 y con la inhibición de la fosforilación del sustrato receptor de insulina, lo cual se manifiesta como resistencia a la insulina y explica en parte el vínculo entre la obesidad y el desarrollo de resistencia a la insulina y posterior DM, ya que la obesidad es un estado proinflamatorio, dada la intensa actividad endocrina del adipocito.<sup>23, 110-111</sup>

En relación al FNT- $\alpha$ , esta citocina se identificó originalmente como un producto de los macrófagos aunque ahora se sabe que también es sintetizada por los adipositos, está implicada en las alteraciones metabólicas de la inflamación crónica y los procesos malignos. Se le atribuyen funciones moduladoras de la respuesta inmune, se le considera una citocina inductora de la respuesta inflamatoria y sus actividades biológicas también incluyen la inducción de resistencia a la insulina, anorexia y pérdida de peso. Los adipositos son células fuente y blanco para esta citocina que correlaciona positivamente con el tejido adiposo corporal y disminuye en los sujetos obesos al haber pérdida de peso. Su expresión en los adipositos maduros es inducida por los ácidos grasos libres y los triglicéridos, y es incrementada hasta 2.5 veces en los sujetos obesos.<sup>82,83, 86</sup>

En la obesidad el incremento de los niveles del FNT- $\alpha$  induce la expresión de la IL-6 y al igual que esta citocina está involucrado en el desarrollo de resistencia a la insulina, al interferir en las cascadas de señalización de la misma, el FNT- $\alpha$  causa una inhibición de la autofosforilación de los residuos de tirosina del receptor de insulina y además causa la fosforilación de una serina del IRS, esto provoca a su vez la fosforilación de una serina del receptor de insulina e inhibe la fosforilación de tirosina que se requiere para promover la cascada de señales para la captura de la glucosa, por lo tanto todo esto se traduce en resistencia a la insulina. La cual puede ser parte de la causa de la DM o bien parte de la fisiopatología de esta enfermedad en la cual como se ha visto, a causa de la hiperglucemia y la adiposidad hay un estímulo constante que se manifiesta con los procesos de EOX e inflamación crónica.<sup>82,83, 86,109-113</sup>

---

Finalmente, de acuerdo con todo lo mencionado, la DM2 es una enfermedad en la que se presentan de manera simultánea el EOx y el PIC con posibles efectos aditivos, lo cual puede incrementar el riesgo para desarrollar macro y microangiopatías como complicaciones de esta enfermedad, por lo tanto la comprensión de estos procesos fisiopatológicos en la DM2 es importante para lograr un manejo integral y oportuno con el fin de prevenir dichas complicaciones. Del mismo modo considerando que el envejecimiento es un proceso que se acompaña de EOx y del PIC independientemente del estado de salud del sujeto, es importante conocer el efecto de la co-existencia de la DM2 y la vejez sobre dichas alteraciones bioquímicas.

En este sentido, existen evidencias de la presencia del EOx y del PIC tanto en sujetos diabéticos como en AM; en cuanto a la diabetes, se ha señalado un incremento en los marcadores de oxidación y una disminución de los antioxidantes en sujetos de diferentes poblaciones incluidos pacientes con DM1, además de que se ha reportado un incremento en los marcadores de inflamación e incluso existen estudios longitudinales donde se ha puesto en evidencia que el estado proinflamatorio asociado a la obesidad es factor de riesgo para el desarrollo posterior de la DM2 mientras que cuando ya se padece la enfermedad los niveles elevados de citocinas y de PCR favorecen el desarrollo de afecciones cardiovasculares.<sup>42-47, 110,114-116</sup>

Por otro lado, en apoyo de la teoría que explica al envejecimiento como consecuencia de una deficiente defensa ante al daño oxidativo, también existen reportes del incremento de los marcadores de oxidación en los sujetos mayores y respecto a la inflamación crónica este es un proceso que se ha aceptado como parte del envejecimiento, las evidencias que señalan un incremento en las citocinas proinflamatorias en los AM han aumentado considerablemente, por lo cual han surgido propuestas para explicar esta situación, algunos autores la atribuyen a una expresión tardía basada en la evolución del sistema inmune innato.<sup>69-71, 117-119</sup>

Sin embargo y a pesar de que existe un conjunto de evidencias de la relación del EOx y del PIC con la DM y con el envejecimiento, los estudios se han realizado de forma aislada, ya sea en sujetos diabéticos o bien en mayores, sin considerar el efecto de la vejez en co-existencia con la DM2; además, en la mayoría se determina la presencia del EOx o del PIC, no

---

---

de ambos procesos; es por eso que considerando los vínculos que existen en los mecanismos revisados previamente y el hecho de que el envejecimiento puede influir en la intensidad de los procesos, el motivo de la presente investigación fue determinar la relación del EOx y del PIC en sujetos con DM2 jóvenes y ancianos.

## V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La DM es una enfermedad metabólica de origen endocrino la cual es considerada como un problema de salud pública a nivel mundial debido a su alta frecuencia entre la población y a lo grave de las complicaciones que genera. En nuestro país fue reportada en el año 2001 como la principal causa de muerte en la población general, así como la principal causa de amputación de miembros inferiores, de origen no traumático, así como de otras complicaciones como retinopatía e insuficiencia renal y es uno de los principales factores de riesgo para enfermedades cardiovasculares; por lo tanto la comprensión de los mecanismos fisiopatológicos y la prevención de su progreso es muy importante debido a lo discapacitante y costoso de sus complicaciones.

En diversas investigaciones se ha señalado a la hiperglucemia crónica, principal característica de la DM como causante del desarrollo de procesos como la glucosilación no enzimática de proteínas y la autooxidación de la glucosa que propician la formación de RL libres y de productos de glucosilación avanzada los cuales estimulan la respuesta inmune y favorecen el EOx y el PIC, además de endurecimiento arterial debido a la alteración de proteínas estructurales de bajo recambio con el consecuente desarrollo de micro y macroangiopatías, que son la manifestación de las complicaciones de la DM.

Sin embargo a pesar de que en investigaciones recientes se ha reportado que tanto en el envejecimiento como en la DM2 se presentan el PIC y el EOx, debido a los cambios intrínsecos al envejecimiento y a la hiperglucemia crónica, no existen reportes precisos respecto a la asociación entre los marcadores de EOx y PIC con la DM2 vinculados a la influencia de la edad, por tal motivo nos hemos planteado la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es la relación del envejecimiento y la DM2 con el EOx y el PIC?

---

---



## **VI. HIPÓTESIS**

Acorde con la información teórica disponible respecto a la asociación del proceso de envejecimiento y la DM2 con el PIC y el EOx, suponemos que los adultos mayores con DM2 mostrarán mayor proporción y grado de EOx y concentraciones significativamente más altas de leptina, IL-6, FNT- $\alpha$ , PCR, y más bajas de adiponectina, que los adultos jóvenes con DM2.

## **VII. OBJETIVOS**

### General

Determinar la relación del envejecimiento y la DM2 con el EOx y el PIC

### Específicos

- Determinar los niveles séricos de lipoperóxidos, enzimas antioxidantes SOD y GPx, actividad antioxidante total en sujetos con y sin DM tipo2.
- Evaluar los niveles séricos leptina, adiponectina, IL6, PCR y FNT- $\alpha$  en sujetos con y sin DM tipo 2.
- Evaluar la influencia de la edad sobre el EOx y el PIC en sujetos con DM2.

## VIII. MATERIAL Y MÉTODOS

### VIII.1 Población y diseño

Se llevó a cabo un estudio observacional, prolectivo, transversal y comparativo en una muestra de 224 sujetos conformada por los siguientes grupos: i) 56 adultos jóvenes con edad de  $47\pm 7$  años, ii) 60 adultos jóvenes con DM2 con edad promedio de  $52\pm 6$ , iii) 40 adultos mayores sanos con edad de  $67\pm 7$  años y iv) 72 adultos mayores diabéticos con promedio de edad de  $68\pm 7$  años.

### VIII.2 Variables

Independientes:

- Edad (jóvenes/ancianos)
- Estado de salud (sanos/diabéticos)

Dependientes:

- EOx
- PIC

### VIII.3. Técnicas

Las técnicas que se utilizaron fueron las siguientes:

Historia clínica geriátrica completa con estudios de laboratorio y gabinete acordes al diagnóstico.

### VIII.3.1. Mediciones antropométricas y clínicas.

Las medidas antropométricas fueron obtenidas siguiendo un protocolo estandarizado:

- Peso: las personas fueron pesadas con la menor cantidad de ropa, (con una bata clínica) en una báscula calibrada marca Torino.
- Estatura: los pacientes se colocaron con los talones juntos, glúteos hombros y cabeza en contacto con el estadiómetro, y los ojos mirando al frente y el plano de Frankfurt paralelo al suelo.
- Índice de masa corporal: se obtuvo a través de la razón peso dividido entre la estatura al cuadrado ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ).
- Cintura: se midió la circunferencia de la cintura a nivel de la cicatriz umbilical, utilizando una cinta métrica de asbesto sin hacer ninguna presión sobre el cuerpo.
- Cadera: Se determinó midiendo la parte más prominente de los glúteos, utilizando una cinta métrica de asbesto.
- Índice cintura-cadera: se obtuvo al dividir el valor obtenido de la circunferencia de la cintura entre la circunferencia de la cadera.

### Presión Arterial

La presión arterial se tomó siguiendo el método establecido en el apéndice B de la NOM-030-SSA2-1999 para la prevención, tratamiento y control de la hipertensión arterial.<sup>120</sup> La presión arterial se determinó con el paciente sentado con un buen soporte para la espalda, con el brazo descubierto y flexionado a la altura del corazón. Se utilizó un esfigmomanómetro mercurial, el observador se situó de manera que podía ver el menisco de la columna de mercurio, se colocó el brazalete situando el mango sobre la arteria humeral y mientras se palpa la arteria humeral se infla rápidamente el mango hasta que el pulso desaparece a fin de determinar por palpación la tensión arterial sistólica (TAS), se desinfla nuevamente el mango y se coloca la cápsula del estetoscopio sobre la arteria humeral, se infla rápidamente el mango 30 o 40 mm Hg por arriba del nivel palpatorio de la presión sistólica, se desinfla a una velocidad de 2 mm Hg/seg. La aparición del primer ruido de Korotkoff marca el nivel de la tensión arterial sistólica (TAS) y el quinto la tensión arterial diastólica (TAD).

---

---

### VIII.3.2. Pruebas bioquímicas

A los sujetos participantes en el estudio se les tomaron muestras sanguíneas por venopunción, las cuales fueron obtenidas entre las 8:00 y 9:00 h. con ayuno previo de 8h, en tubos al vacío (Beckton-Dickinson, México); sin anticoagulante para las determinaciones bioquímicas (glucosa, perfil lipídico, perfil renal, insulina, leptina, adiponectina, IL-6, FNT-a y PCR), con EDTA disódico para la biometría hemática y la hemoglobina glucosilada y con heparina para las pruebas de estrés oxidativo. Para la determinación de los parámetros bioquímicos se centrifugaron las muestras coaguladas a 3500 rpm durante 10 min. y se separó el suero. Se alicuotó y congeló a -70°C en microtubos por separado para la determinación posterior de leptina, insulina, adiponectina y las citocinas. Las determinaciones bioquímicas (glucosa, perfil renal y perfil lipídico) se realizaron utilizando un autoanalizador Eclipse Merck Co. Para la hemoglobina glucosilada se separaron 100 µL de sangre anticoagulada con EDTA y el resto se utilizó para la biometría hemática. Para las pruebas de EOx, se separaron 600 µL de sangre total anticoagulada para SOD, 100 µL para GPx, plasma heparinizado 100 µL para CAT y 1000 µL para LPO.

Las técnicas utilizadas fueron las siguientes:

- Glucosa: Estuche comercial para la determinación de glucosa (método de la glucosa-oxidasa, Randox GL 2614). La glucosa se determina colorimétricamente después de una oxidación enzimática en presencia de glucosa oxidasa. Muestra y patrón se mezclan e incuban durante 10 min. a 15-25°C y se lee la absorbancia a 500 nm frente a blanco de reactivo.
- Hemoglobina glucosilada: Estuche comercial para la determinación de hemoglobina glucosilada (Randox HA 3830a). El primer paso involucra el pretratamiento de la muestra de sangre total, se lisan las células rojas y se provoca la hidrólisis de la hemoglobina por la acción de una enzima proteasa, posteriormente la presencia de HbA1c se mide por aglutinación en látex, compitiendo la glucohemoglobina con anticuerpos monoclonales HbA1c.

- Colesterol: Estuche comercial para la determinación de colesterol (método enzimático de punto final) CHOD-PAP (Randox Laboratories Ltd; UK, CH 201). El colesterol se determina colorimétricamente después de hidrólisis enzimática y oxidación. El blanco, patrón y muestra se agitan e incuban con el reactivo de color 10 minutos de 20 a 25°C o 5 min. a 37 °C, y se mide la absorbancia a 546 nm antes de 60 min.
  - Triglicéridos: Estuche comercial para la determinación de triglicéridos Randox GPO-PAP (Randox Laboratories Ltd, UK, TR212). Se determina tras hidrólisis enzimática con lipasas. El blanco, patrón y muestra se agitan e incuban con el reactivo de color de 10 a 15 min. a 20-25° o 5 min. a 37°C, y se mide la absorbancia a 500 nm antes de 60 min.
  - HDL-Colesterol: Reactivo precipitante -colesterol catálogo Ch204 (paquete suplementario para colesterol CHOD-PAP) (Randox Laboratories Ltd, UK). La determinación se fundamenta en que las lipoproteínas de baja densidad (LDL), muy baja densidad (VLDL) y las fracciones de quilomicrones se precipitan cuantitativamente al añadir ácido fosfotúngstico en presencia de Mg<sup>2+</sup>, se toma el sobrenadante y de éste se determina la fracción de HDL posteriormente por el método enzimático de punto final para colesterol total.
  - Urea: Estuche comercial para la determinación de urea (Randox Laboratorios Ltd, UK UR 107). El método utilizado fue ureasa-Berthelot modificado. Iones amonio producidos por acción enzimática reaccionan con salicilato e hipoclorito sódico para formar un complejo verde que se lee a 600 nm. Muestras y patrón se mezclan con ureasa por 5 min. a 25°C y posteriormente con hipoclorito sódico, se leen contra el blanco de reactivo tras incubar 10 min.
  - Acido úrico: Estuche comercial para la determinación de ácido úrico. Método enzimático colorimétrico (Randox Laboratories Ltd, UK UA 230). El ácido úrico se convierte, catalizado por uricasa en alantoína y peróxido de hidrógeno, el cual a su vez reacciona con el reactivo de color para producir un compuesto de quinoneimina rojo violeta que se lee a 520 nm. Muestras y patrón se mezclan e incuban con el reactivo de color durante 15 min. a 25 °C y se mide la absorbancia frente a reactivo blanco.
- 
-

- Creatinina: Estuche comercial para la determinación de creatinina método colorimétrico (Randox Laboratories Ltd, UK CR510). La creatinina en solución alcalina reacciona con ácido pícrico para formar un complejo coloreado, en cantidad proporcional a la concentración de creatinina. Las muestras y el patrón se mezclan con el reactivo de color y se lee la absorbancia  $A_1$  al cabo de 30 segundos y exactamente después de 2 min. se lee la absorbancia  $A_2$ , se obtiene la diferencia y se calcula comparando con el estándar.
- La biometría hemática se determinó en forma manual; se empleó el procedimiento con cianometahemoglobina para la concentración de hemoglobina, el micrométodo para la determinación del hematocrito y la cuenta de leucocitos se realizó en una cámara de Newbauer.
- Leptina: Se utilizó el estuche para la determinación de leptina método inmunoradiométrico (IRMA) (Diagnostic Systems Laboratories, Inc. Webster, Texas DSL-23100).  
El método emplea un principio de dos sitios inmunoradiométricos, es una determinación no competitiva en la cual el analito a ser medido es atrapado entre dos anticuerpos. El primero de estos se encuentra inmovilizado en el interior de las paredes de los tubos. El otro anticuerpo se encuentra radiomarcado ( $I^{125}$ ) para su detección. El analito presente en las muestras, estándares y controles es ligado a ambos anticuerpos para formar un complejo de "sandwich". Los restos no ligados son eliminados por decantación y lavado de tubos. La muestra utilizada fue suero sanguíneo.

Procedimiento:

1. Se etiquetan dos tubos comunes (sin anticuerpo) para las cuentas totales. Se marcan y ordenan por duplicado los tubos cubiertos con anticuerpo antileptina (proporcionados en el estuche) para los estándares, controles y muestras.
  2. Se agregan 100  $\mu$ L de los estándares, controles y muestras en el fondo de los tubos con anticuerpo.
  3. Inmediatamente después se agregan a cada tubo 200  $\mu$ L de reactivo antileptina marcado con  $I^{125}$ .
  4. Se agitan cuidadosamente por espacio de 1 a 2 segundos.
- 
-

5. Se incuban todos los tubos entre 18-24 horas a temperatura ambiente.
6. Se decantan todos los tubos, excepto los de cuenta total, por inversión simultánea en un recipiente para desechos radiactivos, se escurren perfectamente sobre material absorbente para facilitar un completo vaciado y posteriormente se dejan sobre material absorbente de 1-2 min.
7. Se agregan 3 mL de solución de lavado a cada tubo, excepto a los tubos de cuenta total, empleando para ello un pipetor.
8. Se decantan todos los tubos, excepto los de cuenta total.
9. Se repiten los pasos 7 y 8 dos veces más para un total de 3 lavados.
10. Se colocan todos los tubos en un contador gamma (Cobra II Auto-Gamma, Packard Canberra Company) para su lectura durante un minuto.

Se calcula las cuentas netas por minuto (CPM) al sustraer la media de cuentas por minuto del estándar de 0 ng/mL de las cuantas de controles, muestras y estándares. Se calcula el porcentaje de unión de la muestra, el estándar y el control como sigue:

$$\%U/T: (\text{Cuenta neta muestra}/\text{Cuentas totales})\times 100$$

Se construye una curva de las CPM o del %U/T (eje Y) contra la concentración de leptina (eje X) de las estándares en una gráfica log-log. En base a las CPM o al %U/T de muestras y controles se determina la concentración de leptina a partir de la curva construida.

Se consideró hiperleptinemia en los hombres cuando tenían valores > 9.15 ng/mL y en las mujeres > 27.6 ng/mL.

- **Insulina**

Se utilizó el estuche para la determinación de insulina método radioinmunoensayo (RIA), Insulin-CT (CIS Bio International).

El principio de la determinación está basado en la competencia entre la insulina marcada ( $I^{125}$ ) y la contenida tanto en los estándares como en los especímenes que van a ser cuantificados, por un número fijo y limitado de sitios de unión a anticuerpos. Después de un periodo de incubación, la cantidad de insulina marcada unida al anticuerpo es inversamente proporcional a la cantidad de insulina no marcada presente

---

---



en la muestra. La separación del antígeno libre y ligado es fácil y rápidamente lograda por el empleo de un doble sistema de anticuerpos. La muestra utilizada fue suero sanguíneo

Procedimiento:

1. Se marcan cuatro tubos de ensayo comunes (no recubiertos), dos como CT contajes totales y dos como unión no específica (UNE). Se marcan y ordenan por duplicado los tubos cubiertos con anticuerpo anti-insulina (proporcionados en el estuche) para los estándares (del nivel A hasta el nivel G) y para las muestras.
2. Se pipetea 200  $\mu$ l del calibrador cero A en los tubos de UNE y A, y 200  $\mu$ l de los restantes calibradores y muestras en los tubos preparados. Pipetear directamente en el fondo.
3. Se agrega 1ml de I<sup>125</sup> Insulina a cada tubo. Agitar en vórtex.
4. Se incuban todos los tubos por 20 horas a temperatura ambiente.
5. Decantar completamente, utilizando una gradilla de decantación se elimina el contenido de todos los tubos (excepto los CT) y se dejan escurrir durante 2 o 3 minutos; se golpea enérgicamente los tubos sobre papel absorbente para eliminar las gotas residuales.
6. Se leen durante un minuto en el contador gamma (Cobra II Auto-Gamma, Packard Canberra Company).
7. Para calcular las concentraciones de insulina en una representación logarítmica de las curvas de calibración, primero se calcula por cada par de tubos la media de las cuentas de los tubos UNE corregidas por minuto :

Cuentas netas: Media CPM- Media UNE CPM

Después determinar la unión de cada pareja de tubos como un porcentaje de la unión máxima (UM), tomando las cuentas corregidas con la UNE de los tubos A como 100%.

Porcentaje de unión : (Cuentas netas/ cuentas UM netas) \*100

Se construye una gráfica log-log representando el porcentaje de unión en el eje vertical frente a la concentración en el eje horizontal para cada calibrador y se determina

---

---

la ecuación de la curva, con la cual se calcula la concentración de insulina en las muestras por interpolación.

Se consideraron valores altos de insulina los superiores a 20 $\mu$ UI/mL. Para determinar la resistencia a la insulina RI, se utilizó el cálculo de HOMA IR determinado por la fórmula propuesta por Matthews et al.<sup>121</sup> :

$$IR = (\text{Insulina en ayunas en } \mu\text{U/mL} \times \text{glucosa en ayunas en mM})/22.5$$

Se tomó como valores elevados de resistencia a la insulina los superiores a 6.21.

- Adiponectina

Se utilizó el estuche para determinación de adiponectina humana, método RIA, (LINCO, Research).

En esta técnica, una concentración fija de antígeno marcado es incubada con una dilución constante de antisuero de modo que la concentración de sitios de unión a antígeno es limitada. Si un antígeno no marcado es adicionado al sistema, hay competencia entre el indicador (o marca) y el antígeno no marcado. Entonces la cantidad de indicador unido al anticuerpo disminuirá de manera proporcional al incremento del antígeno no marcado unido. Esta puede ser medida tras separar el anticuerpo unido y el marcador libre y contar una fracción, la otra o ambas. Una curva estándar se realiza con cantidades crecientes de un estándar de antígeno no marcado y a partir de esta curva se puede calcular la concentración del antígeno presente en la muestras.

La muestra utilizada fue suero sanguíneo, el cual se diluyó previo a la determinación. Dado que las concentraciones de adiponectina en suero son en niveles de  $\mu$ g/mL y el rango del ensayo es de 1-200ng/mL se requiere una dilución 1:500, la cual debe recordarse al final de la determinación para multiplicar por el factor apropiado.

Procedimiento:

DÍA UNO:

1. Marcar por duplicado tubos para las cuentas totales, para unión inespecífica, tubos de referencia, tubos para estándares, controles y muestras.
  2. Pipetear 300 $\mu$ L de buffer de ensayo en los tubos de unión inespecífica, 200 $\mu$ l en los tubos de referencia y 100  $\mu$ l en todos los restantes (excepto cuentas totales).
-

3. Pipetear 100  $\mu$ l de los estándares, controles y muestras diluidas en los tubos correspondientes.
4. Agregar 100  $\mu$ l de adiponectina I<sup>125</sup> a todos los tubos.
5. Pipetear 100  $\mu$ l de anticuerpo contra adiponectina a todos los tubos, excepto los dos de cuentas totales y los dos de unión inespecífica.
6. Mezclar, cubrir e incubar de 20 a 24 hrs. a temperatura ambiente (20-25°C)

#### DÍA DOS

7. Adicionar 10  $\mu$ l de acarreador a todos los tubos excepto a los de las cuentas totales (tubo 1 y 2).
8. Adicionar 1ml de reactivo precipitante frío a todos los tubos excepto los de cuentas totales.
9. Mezclar e incubar 20 min. a 4°C.
10. Se centrifuga a 4°C , todos los tubos (excepto las cuentas totales) por 20 min de 2000 a 3000 X g.
11. Decantar inmediatamente el sobrenadante de todos los tubos excepto las cuentas totales, escurrir los tubos por 15-60 seg, eliminando los restos de las paredes y borde de los tubos. Es importante invertir los tubos una sola vez, para evitar el desprendimiento del botón.
12. Se colocan todos los tubos en un contador gamma (Cobra II Auto-Gamma, Packard Canberra Company) para su lectura, por un minuto.

Para calcular, se obtienen las medias de las cuentas de los tubos de cuentas totales, unión inespecífica, estándares, controles y muestras. Se les sustrae la media de las cuentas de los tubos de unión inespecífica a todos los tubos, excepto a los de las cuentas totales y estas se usan para determinar el porcentaje de unión:

Porcentaje de unión del indicador: (tubos de referencia)

$(\text{Cuenta de unión}/\text{Cuentas totales}) \times 100$ . Este debe estar entre 25 y 55%.

Porcentaje de unión de muestras, estándares y control:

$\%B/Bo = (\text{Cuentas de estándar o muestras}/\text{Unión total}) \times 100$

Se construye una gráfica log-log para el  $\%B/Bo$  (eje Y) contra la respectiva concentración conocida de los estándares (eje X), se determina la ecuación de la recta y por medio de esta se hace el cálculo de la concentración de adiponectina en muestras y

---

---

controles. Finalmente se multiplica el resultado de las muestras por el factor de dilución apropiado.

Se consideró hipoadiponectinemia los valores inferiores al percentil 25 de la población sana que fue de 11.4 µg/mL para mujeres y 8.8 µg/mL para hombres.

#### Marcadores de proceso inflamatorio

- Proteína C Reactiva (PCR): se utilizó el estuche comercial de (Randox Laboratories Ltd, UK, CP2488). El reactivo PCR contiene partículas de látex recubiertas con anticuerpos que reconocen la PCR humana. Cuando el reactivo se mezcla con suero que contiene PCR a un nivel mayor de 6 mg/L, las partículas se aglutinan, esto se interpreta como prueba positiva. Se coloca una gota de látex (50 µL) sobre una placa oscura, a un lado se colocan 50 µL de la muestra y se mezcla en forma circular, y se lee si hay o no aglutinación. En caso de que sea positivo, se realizan diluciones, (1+1, 1+2,...,1+n), con amortiguador, hasta que no haya más aglutinación. Se reporta en múltiplos de 6 mg/L. Se considera valores altos los iguales o superiores a 6 mg/L.
- Citocinas: Para medir la concentración de citocinas proinflamatorias se utilizaron estuches para determinación de citocinas por el método de ELISA (Quantikine, R&D Systems USA). Este ensayo emplea una técnica cuantitativa de inmunoensayo enzimático. Un anticuerpo monoclonal específico para el analito a medir ha sido pre-acoplado a una microplaca. Muestras y estándares son pipeteados dentro de cada pozo y el analito presente en éstas se une al anticuerpo inmovilizado. Después del lavado y desecho de cualquier sustancia no unida, se adiciona un anticuerpo-policlonal ligado a una enzima y específico para el analito a determinar. Después de lavados para eliminar el anticuerpo policlonal no unido, se adiciona una solución sustrato a los pozos, con lo cual se desarrolla color en cantidad proporcional a la concentración del analito unido en el paso inicial. La reacción por la cual se produce el color es detenida adicionando una solución stop y la intensidad del color es medida.

- Procedimiento para la determinación de IL-6:
  1. Preparar todos los reactivos y estándares con las soluciones indicadas para la determinación en suero.
  2. Adicionar 100 $\mu$ L de diluyente de ensayo a cada pozo.
  3. Adicionar 100 $\mu$ L de muestras o estándares a cada pozo e incubar por 2 hrs. a temperatura ambiente.
  4. Aspirar y lavar cuatro veces.
  5. Adicionar 200 $\mu$ L de conjugado a cada pozo. Incubar 2 hrs. a temperatura ambiente.
  6. Aspirar y lavar cuatro veces.
  7. Adicionar 200 $\mu$ L de solución sustrato a cada pozo, incubar por 20 min a temperatura ambiente, proteger de la luz.
  8. Adicionar 50 $\mu$ L de solución stop a cada pozo. Leer a 450 nm dentro de 30 min. Corregir la lectura a 540 o 570 nm.
  
- Procedimiento para la determinación de FNT- $\alpha$ :
  1. Preparar todos los reactivos y estándares con las soluciones indicadas para la determinación en suero.
  2. Adicionar 50 $\mu$ L de diluyente de ensayo a cada pozo.
  3. Adicionar 200 $\mu$ L de muestras o estándares a cada pozo e incubar por 2 hrs. a temperatura ambiente.
  4. Aspirar y lavar cuatro veces.
  5. Adicionar 200 $\mu$ L de conjugado a cada pozo. Incubar 2 hrs. a temperatura ambiente.
  6. Aspirar y lavar cuatro veces.
  7. Adicionar 200 $\mu$ L de solución sustrato a cada pozo, incubar por 20 min a temperatura ambiente, proteger de la luz.
  8. Adicionar 50 $\mu$ L de solución stop a cada pozo. Leer a 450 nm dentro de 30 min. Corregir la lectura a 540 o 570 nm.

Para calcular la concentración de citocina, se sustrae la absorbancia de el estándar de concentración 0pg/mL a la absorbancia de muestras y estándares, por regresión lineal se construye una gráfica log-log con la absorbancia de los estándares (eje Y) contra la

---

---

concentración (eje X), se determina la ecuación de la recta y con ésta se calcula la concentración de citocina presente en las muestras.

Se calcularon valores de corte obteniendo el percentil 90 de la población sana para ambas citocinas, para IL6 fue  $>4.0\text{pg/mL}$  y para FNT-  $\alpha >8.5\text{ pg/mL}$ .

#### Marcadores de Estrés Oxidativo

- **Lipoperóxidos:** Esta técnica utiliza el malonaldehído (MDA) como marcador de lipoperoxidación, mediante una reacción con ácido tiobarbitúrico (TBA), el cual forma un pigmento de color rosa que se mide a 535nm. La formación del complejo TBA-MDA por eliminación de oxígeno se ve favorecida por la adición de butiril-hidroxitolueno (BHT). La muestra utilizada es plasma heparinizado, al cual se adicionan 10mL de BHT 2mmol por ml de plasma en caso de que éste no se vaya a ensayar inmediatamente, para prevenirla auto-oxidación de la muestra.

El método utilizado se basa en el análisis realizado por Jentzsch en 1996 en relación al malondialdehído en fluidos corporales humano. <sup>122</sup>

#### Procedimiento:

1. Se marcan tubos de vidrio, ocho para la curva estándar y el resto para las muestras a medir.
  2. Se colocan 400  $\mu\text{L}$  de plasma heparinizado a los cuales se agregan 50  $\mu\text{L}$  de BHT 12.6 mM y 400  $\mu\text{L}$  de ácido ortofosfórico 0.2 mol/L consecutivamente, se mezclan y se agitan en vórtex por 10 seg.
  3. Se adicionan 50  $\mu\text{L}$  de TBA 0.11mol/L, se mezclan y agitan en vórtex por 10 seg.
  4. Se tapan los tubos y se colocan en un baño de agua a 90°C por 45 minutos.
  5. Cuidadosamente se sacan los tubos del baño y se colocan en hielo, una vez fríos, se agrega a cada tubo 1200ml de butanol y 100  $\mu\text{L}$  de solución saturada de cloruro de sodio.
  6. Se mezclan y agitan en vórtex por 10 seg. Posteriormente se centrifugan a 5000rpm por 1min.
- 
-

7. Se extrae el sobrenadante y se lee contra blanco de butanol a 535 nm y a 572 nm para hacer corrección de lectura por presencia de aductos coloridos que se forman durante la reacción y se calcula la diferencia.
8. La concentración de lipoperóxidos se calcula al interpolar en la curva estándar construida cantidades crecientes de la sustancia patrón que es el 1,1,3,3-tetrametoxipropeno (TMP). Para la curva se preparan las siguientes soluciones:
- TMP 1mM: se diluyen 17 $\mu$ L de TMP en 100ml de agua destilada (solución madre preparada en función del peso molecular del TMP)
- TMP 0.2 mM: se toma 1ml de TMP 1mM y se añaden a 4ml de agua bidestilada (se prepara cada vez que se usa).
- Se preparan ocho tubos de concentraciones crecientes como se muestra a continuación:

TUBO	TMP ( $\mu$ L)	H <sub>2</sub> O(mL)	MDA ( $\mu$ mol/L)
1	0	400	0
2	10	390	0.4
3	20	380	0.8
4	40	360	1.6
5	60	340	2.4
6	100	300	4.0
7	140	260	5.6
8	200	200	8.0

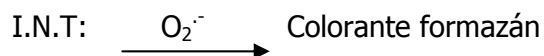
A cada tubo se le da el mismo tratamiento que a las muestras.

- Superóxido Dismutasa (SOD): En la cuantificación de la actividad de SOD se empleó el equipo comercial Ransod superóxido dismutasa (Randox Laboratorios Ltd, UK) que se basa en el empleo de xantina y xantinoxidasa (XOD) para formar radicales superóxido.

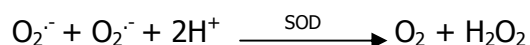


---

Los radicales superóxido formados reaccionan con cloruro de 2-(4-yodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolio (I.N.T.) para formar un colorante formazán rojo.



Se mide la actividad de la superóxido dismutasa por el grado de inhibición de la reacción:



Procedimiento: Se tomaron 500  $\mu\text{L}$  de la muestra de sangre total y se lavaron los eritrocitos 3 veces con 3 mL de solución de NaCl al 0.9%, centrifugando durante 10 min. a 3000 rpm después de cada lavado.

A el botón de eritocitos lavados, se adicionaron 2 mL de agua bidestilada fría, se mezcló y dejó reposar durante 15 minutos a 4°C. Del lisado se tomaron 100  $\mu\text{L}$  y se diluyeron con 1.9 mL de tampón fosfato 0.01 mmol/L pH 7.0. Se pipetearon 0.05 mL de la muestra diluida y se adicionaron 1.7 mL de sustrato mixto (xantina 0.05 mmol/L, I.N.T. 0.025 mmol/L). Después de mezclar perfectamente se agregaron 0.25 mL de xantin oxidasa (xantin oxidasa 0.94 mmol/L). Se mezcló y se registró la absorbancia  $A_1$  al cabo de 30 segundos y se empezó a cronometrar el tiempo simultáneamente para leer la absorbancia final  $A_2$  al cabo de 3 min. frente a blanco de agua a una longitud de onda de 505 nm en un espectrofotómetro Shimadzu.

- Glutación Peroxidasa (GPx): Para la cuantificación de la actividad de glutación peroxidasa se empleó el equipo comercial de Randox, Ransel glutación peroxidasa. Este método está basado en el trabajo de Plagia y Valentine. La glutación peroxidasa (GPx) cataliza la oxidación del Glutación (GSH) por el hidroperóxido de cumeno.

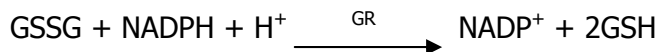


El glutación oxidado (GSSG) en presencia de glutación reductasa (GR) y NADPH es inmediatamente convertido en su forma reducida con una oxidación concomitante de

---



NADPH en NADP<sup>+</sup>. Se mide la disminución de la absorbancia a 340 nm.



Procedimiento: Se diluyeron 0.05 mL de sangre entera heparinizada en 1 mL de solución diluyente, provista por Randox; se incubó durante 5 min. para posteriormente añadir 1 mL de reactivo de Drabkin a doble concentración. Las muestras se analizaron en los siguientes 20 min.

Para el ensayo, se colocaron 0.02 mL de la muestra diluida, 1 mL de reactivo (glutatión 4 mmol/L, glutatión reductasa  $\geq$  0.5 U/L y NADPH 0.34mmol/L) y 0.04 mL de cumeno (hidroperóxido de cumeno 0.18 mmol/L).

Se mezcló y leyó la absorbancia inicial de la muestra y del reactivo blanco al cabo de un minuto y se empezó a cronometrar simultáneamente para leer de nuevo al cabo de 1 y 2 min. La cinética de esta reacción se lee a 340 nm.

- Razón SOD/GPx: Se calcula este parámetro como cociente entre la actividad de la enzima SOD y la actividad de la GPx, ambas en U/L.
- Capacidad sérica antioxidante total: Para la determinación de la capacidad antioxidante total se empleó un equipo comercial (Total antioxidant status, Randox Laboratories Ltd, UK). El análisis del estado de los antioxidantes totales, se trata de una prueba en donde se combinan la peroxidasa (metamioglobina) con peróxido de hidrógeno y ABTS (2,2'-azido-di etilbenzotiazolin sulfonato) para dar como resultado la formación del radical catión ABTS<sup>+</sup>. Este radical presenta una coloración verde azulada, la presencia de antioxidantes en la muestra produce una supresión de esta coloración, siendo ésta proporcional a la concentración de antioxidantes.

Procedimiento: Se pipetearon 20  $\mu$ L de plasma y se adicionó 1 mL de cromógeno. Después de mezclar perfectamente se prosiguió a la lectura de la absorbancia inicial A<sub>1</sub> a una longitud de onda de 600 nm. Se adicionaron 200  $\mu$ L de sustrato, y posterior a la mezcla se empezó a cronometrar simultáneamente para leer la absorbancia A<sub>2</sub> al cabo de exactamente tres minutos.

- Brecha antioxidante (GAP) : Se calcula a partir de la CAT en  $\mu\text{mol/L}$ , las concentraciones de albúmina y ácido úrico en las mismas unidades y los valores de CAT en equivalente en Trolox (TEAC) para albúmina y ácido úrico, con base en la siguiente fórmula:

$$\text{GAP antioxidante} = \text{CAT} - [(\text{albúmina} \times \text{TEAC}) + (\text{ác. Úrico} \times \text{TEAC})]$$

El TEAC para albúmina es 0.69 y para ácido úrico es 1.0

Para determinar la existencia de alteraciones en los parámetros y determinar la existencia de EOX se manejaron como valores de corte los siguientes, obtenidos de una población de adultos jóvenes de Actopan, Hgo.

LPO ( $\mu\text{mol/L}$ )	$\geq 0.340$
SOD (U/L)	$\leq 170$
GPx(U/L)	$\leq 5500$
SOD/GPx	$\geq 0.023$
CAT(mmol/L)	$\leq 0.90$
GAP( $\mu\text{mol/L}$ )	$\leq 190$

Para determinar si los sujetos presentaban EOX, se obtuvo un índice, el cual se calculó al dicotomizar cada uno de los parámetros determinados, dando el valor de 1 cuando las concentraciones estaban por arriba (en el caso de lipoperóxidos y la razón SOD/GPx) o por debajo (todos los demás parámetros) del valor de corte. Así el sujeto con todos los parámetros alterados tenía un índice igual a 6 y EOX severo.

Para evaluar grados de EOX se generó una escala:

Índice: 0 Sin EOX

Índice: 1-2 EOX leve

Índice: 3-4 EOX moderado

Índice: 5-6 EOX severo

Y finalmente se dicotomizó el índice para clasificar a los sujetos sin estrés o con estrés, sin estrés cuando el índice estaba entre cero y dos y con estrés con valores de tres en adelante.

#### VIII.4. Diseño Estadístico

Después de calcular las medidas descriptivas de los datos cuantitativos (media, desviación estándar), se llevó a cabo un análisis de comparación de medias a través de la prueba ANOVA con un nivel de confianza al 95% y como post hoc la prueba de Tukey para las variables cuantitativas continuas y las pruebas U de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis para las variables cuantitativas discontinuas. Se determinaron las frecuencias de valores alterados de marcadores de EOX, de las citocinas, así como de grados de EOX y EOX y se compararon por medio de la  $\chi^2$  con 95% como nivel de confianza. Además se hizo un análisis de regresión múltiple para la HbA1c y se estratificó por diagnóstico.

Para la determinación de riesgos se calculó la razón de momios (RM) a través de análisis univariado, estableciendo como riesgo cuando la  $RM > 1$  y significancia estadística cuando  $p < 0.05$  y el intervalo de confianza no incluyó el 1.

---

---

## IX. RESULTADOS

La población de estudio se estratificó en función del diagnóstico y la edad, conformándose cuatro grupos, i) jóvenes sanos, ii) adultos mayores sanos, iii) jóvenes diabéticos y iv) adultos mayores diabéticos. En el cuadro IX.1 se presentan las medidas bioquímicas, clínicas y antropométricas descriptivas de la población, como datos estadísticamente significativos tenemos que los niveles de glucosa, HbA1c y RI son mayores en los sujetos diabéticos y aun mayores entre los AMD ( $p < 0.05$ ). Con relación a los marcadores de EOx, el grupo de adultos mayores diabéticos mostró niveles de LPO significativamente más altos ( $p < 0.05$ ) que el grupo de diabéticos jóvenes, respecto a la actividad de la SOD y la AT vemos que fue similar en los cuatro grupos, mientras que la actividad de la GPx fue significativamente más alta y la razón SOD/GPx más baja en los sujetos jóvenes sanos en comparación con los jóvenes diabéticos ( $p < 0.0001$ ) (cuadro IX.2).

Respecto a los marcadores del PIC, las concentraciones de PCR, IL-6 y FNT- $\alpha$  fueron más altas en los sujetos diabéticos en comparación con los sanos en ambos grupos de edad, sin embargo sólo en los niveles del FNT- $\alpha$  la diferencia fue estadísticamente significativa. ( $p < 0.05$ ). Con relación a las concentraciones de leptina y adiponectina no se encontraron diferencias significativas entre los grupos por edad o diagnóstico (cuadro IX.3).

Por otro lado, se presenta el porcentaje de sujetos con niveles fuera de los valores de corte de los diferentes marcadores de EOx. En este sentido, consistentemente con los resultados cuantitativos, encontramos un porcentaje significativamente mayor de sujetos con niveles bajos de GPx y razón SOD/GPx alta en el grupo de AJD ( $p < 0.05$ ), mientras que entre los AM, en el grupo de diabéticos hay un porcentaje significativamente mayor de sujetos con AT y GAP bajos ( $p < 0.05$ ). En cuanto a los grados de EOx determinados, tenemos que en ambos grupos de diabéticos el porcentaje de sujetos sin EOx es menor en comparación con los sanos, mientras presentan mayor frecuencia de EOx moderado, además de que 10% de los AMD presentan EOx severo. (Cuadro IX.4 y figura IX.1).

Respecto a la frecuencia de hiperleptinemia, hiperinsulinemia y PCR positiva, encontramos un porcentaje significativamente mayor de estas alteraciones en el grupo de

---

---

---

---

adultos mayores diabéticos en comparación con los AMS, mientras que el porcentaje de sujetos con niveles altos de FNT- $\alpha$  fue significativamente mayor en los diabéticos de ambos grupos de edad. (Cuadro IX.5 y figura IX.2).

A través del análisis de regresión múltiple se estimó el grado de asociación y dependencia de los niveles de HbA1c con respecto a los marcadores de EOx, PIC y edad, encontrando lo siguiente: se observó una asociación estadísticamente significativa entre la concentración de HbA1c y la GPx ( $r=-0.37$ ,  $p<0.05$ ) y con la razón SOD/GPx ( $r=0.35$ ,  $p<0.05$ ), además de haber relación significativa entre la edad con la SOD ( $r =0.37$ ,  $p<0.05$ ) en los sujetos sanos (cuadro IX.6), en contraste con el grupo de diabéticos quienes mostraron una asociación estadísticamente significativa entre la HbA1c con la edad ( $r =0.21$ ,  $p<0.05$ ), la actividad de la SOD ( $r =-0.21$ ,  $p<0.05$ ), la CAT ( $r=-0.25$ ,  $p<0.01$ ) y el GAP ( $r =-0.21$ ,  $p<0.05$ ), asimismo, se observó una asociación significativa entre la edad con la concentración de LPO ( $r =0.27$ ,  $p<0.01$ ), actividad de la SOD ( $r =-0.26$ ,  $p<0.01$ ), el GAP ( $r =-0.35$ ,  $p<0.001$ ) y AT ( $r =-0.35$ ,  $p<0.001$ ). (Cuadro IX. 7)

De la misma forma, en cuanto al análisis de las adipocinas en los sujetos sanos se encontró asociación entre los niveles de leptina y adiponectina ( $r =-0.64$ ,  $p<0.01$ ) pero no hubo asociación estadísticamente significativa entre la concentración de la HbA1c o la edad con los parámetros del PIC (cuadro IX.8), en contraste con el grupo de diabéticos quienes mostraron una asociación estadísticamente significativa entre la edad con la IL-6 ( $r =0.32$ ,  $p<0.01$ ), el FNT- $\alpha$  ( $r =0.22$ ,  $p<0.05$ ) y la adiponectina ( $r =0.23$ ,  $p<0.05$ ), así como relación entre el FNT- $\alpha$  y la adiponectina ( $r=-0.231$ ,  $p<0.05$ ) y entre la IL-6 y la PCR ( $r=0.201$ ,  $p=0.05$ ) (cuadro IX.9).

Por otro lado, en el análisis univariado para determinación de factores de riesgo para presentar EOx se encontró que ser diabético es factor de riesgo (RM =2.1, IC<sub>95%</sub> 1.2-3.8,  $p = 0.015$ ) al igual que ser AM y ser diabético (RM = 3.1, IC<sub>95%</sub> 1.3-7.5,  $p = 0.014$ ); para tener concentraciones elevadas de FNT- $\alpha$  (como marcador de PIC) fueron factores de riesgo ser mayor de 60 años (RM = 1.9, IC<sub>95%</sub> 1.1-3.5,  $p = 0.029$ ), el ser diabético (RM = 12, IC<sub>95%</sub> 5.0-28,  $p <0.001$ ) y el presentar ambas características (RM = 14.0, IC<sub>95%</sub> 3.7-53.7,  $p <0.001$ ) (cuadro IX.10 y IX.11).

---

---

Cuadro IX.1. Parámetros bioquímicos, clínicos y antropométricos por grupo

Parámetros	ADULTO JOVEN SANO n= 56	ADULTO JOVEN DIABETICO n= 60	ADULTO MAYOR SANO n =40	ADULTO MAYOR DIABETICO n= 72
Edad	47±7	52±6	67±7	68±7
Hemoglobina (g/dL)	15.3±2	15.2±1.6	15.1±1.2	15.1±1.6
Leucocitos cel/mm <sup>3</sup>	6382±2003	7470±4187	9078±3327	8011±4064
EritrocitosX10 <sup>6</sup> /mL	5.54±0.89	5.18±0.57	5.32±0.6	5.3±0.71
Hematocrito %	48±4	57±8	47±4	47±5
Glucosa (mg/dL)	<b>89±19</b>	<b>152±64*</b>	<b>94±17</b>	<b>160±66*</b>
Urea(mg/dL)	38±5	42±6	39±6	41±10
Creatinina(mg/dL)	0.98±0.29	1.04±0.33	0.95±0.23	1.04±0.7
Ac. Urico(mg/dL)	5.2±1.2	5.8±1.9	5.9±1.9	5.3±1.7
Colesterol(mg/dL)	208±12	204±8	203±7	216±5
Triglicéridos(mg/dL)	172±44	206±41	197±36	214±38
HDL-Col.(mg/dL)	56±12	54±14	54±9	53±14
Albúmina(mg/dL)	<b>5±0.8</b>	<b>4.4±0.7*</b>	4.5±0.46	4.5±0.43
HbA1c %	<b>4.7±0.7</b>	<b>6.8±1.4*</b>	<b>4.9±1.7</b>	<b>7.9±2.2*</b>
Insulina	9±6	14±10	<b>12±7</b>	<b>20±15<sup>†</sup></b>
Resistencia a la insulina	<b>2.0±1.4</b>	<b>5.1±4<sup>†</sup></b>	<b>2.6±1.8</b>	<b>8.2±7*</b>
TAS	114±10	124±15 <sup>†</sup>	120±25	135±20*
TAD	75±7	81±9 <sup>†</sup>	78±9	79±10
IMC				
Mujeres	27±4	29±3	28±4	28±4
Hombres	27±4	28±3	26±3	27±3
ICC				
Mujeres	0.83±0.06	1.1±1.3	0.85±0.05	0.91±0.07
Hombres	0.90±0.04	0.95±0.04	0.97±0.07	1.03±0.05

Pruebas Anova y Tukey 95% de confianza.\*p<0.0001, <sup>†</sup>p<0.05

Los valores corresponden a media ± desviación estándar.

HDL: Lipoproteínas de alta densidad, HbA1c: hemoglobina glucosilada, TAS: Tensión arterial sistólica, TAD: Tensión arterial diastólica, IMC: Índice de masa corporal, ICC: Índice cintura cadera

Cuadro IX.2. Parámetros bioquímicos de EOX por grupo

Parámetros	ADULTO	ADULTO JOVEN	ADULTO	ADULTO MAYOR
	JOVEN SANO	DIABÉTICO	MAYOR SANO	DIABÉTICO
	n = 56	n = 60	n = 40	n = 72
Lipoperóxidos( $\mu\text{mol/L}$ )	<b>0.280<math>\pm</math>0.06</b>	<b>0.236<math>\pm</math>0.09<sup>†</sup></b>	0.277 $\pm$ 0.07	0.284 $\pm$ 0.07
SOD (U/mL)	174 $\pm$ 10	174 $\pm$ 7	171 $\pm$ 8	171 $\pm$ 9
GPx (U/L)	<b>11785<math>\pm</math>6476</b>	<b>7470<math>\pm</math>4187*</b>	9078 $\pm$ 3327	8011 $\pm$ 4064
CAT(mmol/L)	1.06 $\pm$ 0.33	1.18 $\pm$ 0.33	1.10 $\pm$ 0.20	0.999 $\pm$ 0.30
SOD/GPx	<b>.017<math>\pm</math>.006</b>	<b>.034<math>\pm</math>.003*</b>	.023 $\pm$ .002	.026 $\pm$ .002
GAP( $\mu\text{mol/L}$ )	241 $\pm$ 346	381 $\pm$ 305	268 $\pm$ 172	216 $\pm$ 294

Pruebas Anova y Tukey 95% de confianza.\* $p < 0.0001$ ,<sup>†</sup> $p < 0.05$

Los valores corresponden a media  $\pm$  desviación estándar.

SOD: Superóxido dismutasa, GPx: Glutación peroxidasa, AT: Capacidad antioxidante total, SOD/GPx: Razón SOD/GPx, GAP: Brecha antioxidante

Cuadro IX.3. Concentración de marcadores de inflamación por grupo de edad y diagnóstico

Parámetros	ADULTO	ADULTO JOVEN	ADULTO	ADULTO MAYOR
	JOVEN SANO	DIABETICO	MAYOR SANO	DIABETICO
	n= 56	n= 60	n =40	n= 72
Leptina(ng/mL)				
Mujeres	22±11	21±14	23±15	25±11
Hombres	4.8±3	6.5±4	8.2±8	15±8.2
Adiponectina(µg/mL)				
Mujeres	15.6±7	15±9	16.2±8	16.4±1
Hombres	11.7±6	12.5±9	14±5.7	13±7
PCR (g/L)*	2.0±7	8.5±25	3.1±12	10±24
IL-6 (pg/mL)	1.7±2.1	2.7±3.1	2.6±3.5	6.8±13
FNT-α(pg/mL)	<b>3.2±3.8</b>	<b>10.3±9.2<sup>‡</sup></b>	<b>3.1±5.1</b>	<b>14.5±13<sup>†</sup></b>

Pruebas Anova y Tukey 95% de confianza.\*Prueba Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney 95% de confianza <sup>†</sup>p<0.0001, <sup>‡</sup>p<0.05, Los valores corresponden a media ± desviación estándar.

PCR: Proteína C reactiva, IL-6: Interleucina 6, FNT-α: Factor de Necrosis Tumoral alfa.



Cuadro IX.4. Porcentaje de grados de estrés oxidativo por grupo de edad y diagnóstico

Parámetros	ADULTO JOVEN	ADULTO JOVEN	ADULTO	ADULTO MAYOR
	SANO	DIABETICO	MAYOR SANO	DIABETICO
	n= 56	n= 60	n = 40	n= 72
LPO ( $\geq 0.340$ U/L)	17(30)	10(17)	12(30)	20(28)
SOD ( $\leq 170$ U/m)	18(32)	17(29)	17(42)	30(41)
GPX( $\leq 5500$ U/L)	<b>2(4)</b>	<b>25(42)*</b>	4(11)	19(26)
CAT( $\leq 0.90$ mmol/L)	18(32)	10(17)	<b>5(13)</b>	<b>27(38)<sup>†</sup></b>
SOD/GPX ( $\geq 0.023$ )	<b>8(14)</b>	<b>38(64)*</b>	17(42)	37(51)
GAP( $\leq 190\mu\text{mol/L}$ )	26(46)	107(29)	<b>14(34)</b>	<b>40(56)<sup>†</sup></b>
SIN EOx Índice = 0	13(23)	4(7)	5(13)	8(11)
EOx LEVE Índice =1-2	<b>30(53)</b>	<b>38(63)<sup>†</sup></b>	25(63)	24(34)
EOx MODERADO Índice =3-4	13(24)	18(30)	<b>10(24)</b>	<b>30(41)<sup>†</sup></b>
SEVERO I=4-6	0(0)	0(0)	0(0)	7(10)
EOx Índice =3-6	13(24)	18(30)	<b>10(24)</b>	<b>37(51)<sup>†</sup></b>

Prueba  $\chi^2$  95% de confianza, \* $p < 0.0001$ , <sup>†</sup> $p < 0.05$

LPO: lipoperóxidos, SOD: Superóxido dismutasa, GPx: Glutación peroxidasa, AT: Capacidad antioxidante total, SOD/GPX: Razón SOD/GPx, GAP: Brecha antioxidante.

Cuadro IX.5. Frecuencia de niveles anormales de hormonas, marcadores de PIC y parámetros antropométricos por grupo

Parámetros	ADULTO	ADULTO JOVEN	ADULTO	ADULTO MAYOR
	JOVEN SANO	DIABÉTICO	MAYOR SANO	DIABÉTICO
	n = 56 (%)	n = 60	n = 40	n = 72
Hiperleptinemia <sup>a</sup>	9(16)	13(22)	<b>7(18)</b>	<b>34(48)<sup>†</sup></b>
Hiperinsulinemia (>20mUI/mL)	4(7)	12(20)	<b>5(13)</b>	<b>27(37)<sup>†</sup></b>
RI(≥6.12)	<b>0(0)</b>	<b>17(28)<sup>*</sup></b>	<b>0(0)</b>	<b>29(40)<sup>*</sup></b>
IMC <sup>b</sup>	27(48)	42(70) <sup>†</sup>	15(38)	19(26)
ICC <sup>c</sup>	9(16)	22(37) <sup>†</sup>	8(21)	45(63) <sup>*</sup>
PCR(≥6mg/L)	6(11)	12(20)	<b>5(13)</b>	<b>29(40)<sup>†</sup></b>
IL6(>4.0pg/mL)	4(8)	14(24)	11(27)	31(43)
FNT(>8.5 pg/mL)	<b>5(9)</b>	<b>30(50)<sup>*</sup></b>	<b>4(11)</b>	<b>47(66)<sup>*</sup></b>
Hipoadiponectinemia <sup>d</sup>	12(21)	23(39)	8(21)	24(33)

Prueba  $\chi^2$  95% de confianza, \*p<0.0001, †p<0.05

<sup>a</sup>Leptina: mujeres>27.6ng/mL, hombres>9.4ng/mL, <sup>b</sup>IMC Adultos jóvenes>27 kg/m<sup>2</sup>, Adultos mayores >29kg/m<sup>2</sup>, <sup>c</sup>ICC: mujeres>0.8, hombres>1.0, <sup>d</sup>Hipoadiponectinemia mujeres <11.4µg/mL, hombres <8.8µg/mL, PCR. Proteína C Reactiva, IL-6: Interleucina 6. FNT- $\alpha$ : Factor de necrosis tumoral alfa.

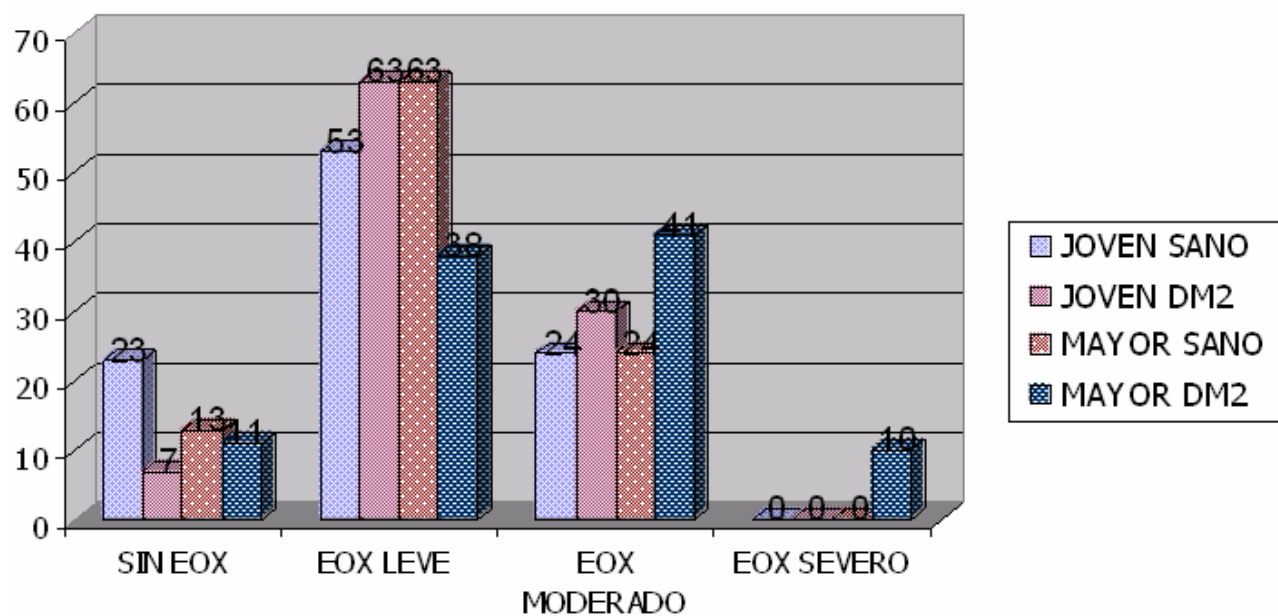


Figura IX.1. Porcentaje de sujetos con diversos grados de EOX por grupo de edad y diagnóstico. Las barras muestran un porcentaje significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) de EOX moderado en el grupo de adultos mayores con DM2, asimismo el 10% de los adultos mayores diabéticos presentaron EOX severo.

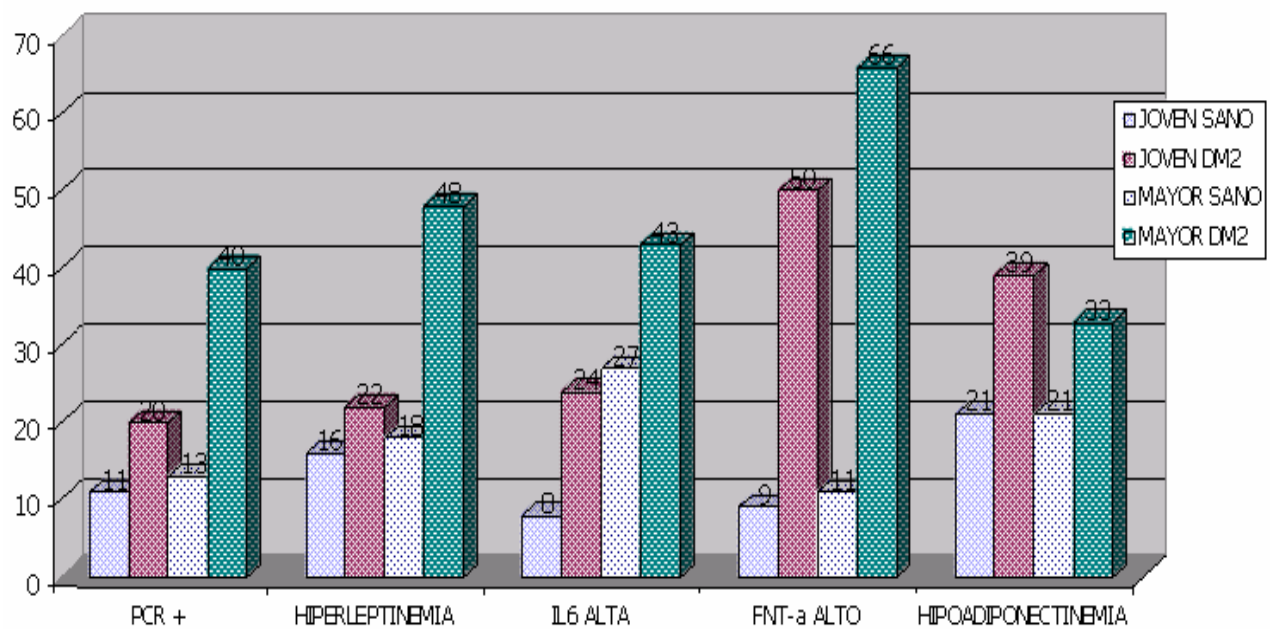


Figura IX.2. Porcentaje de sujetos con niveles anormales de los marcadores de PIC por grupo de edad y diagnóstico. La grafica muestra un mayor porcentaje de niveles altos de PCR, IL-6, FNT- $\alpha$  e hiperleptinemia en adultos mayores con DM2 y niveles bajos de adiponectina en el grupo de adultos jóvenes con DM2.

Cuadro IX.6. Regresión múltiple para la concentración de HbA1c y marcadores de EOX en sujetos sanos

		HbA1c	EDAD	LPO	SOD	GPx	CAT	SOD/GPx	GAP
r	HbA1c	1,000	0,205	-0,216	0,047	-0,367	0,031	0,350	-0,103
	EDAD	0,205	1,000	-0,077	0,371	-0,122	-0,075	0,309	0,013
	LPO	-0,216	-0,077	1,000	-0,108	0,032	-0,110	0,002	-0,032
	SOD	0,047	<b>0,371</b>	-0,108	1,000	0,164	0,309	0,101	0,441
	GPx	<b>-0,367</b>	-0,122	0,032	0,164	1,000	0,009	-0,893	0,069
	CAT	0,031	-0,075	-0,110	0,309	0,009	1,000	0,136	0,909
	SOD/GPx	<b>0,350</b>	0,309	0,002	0,101	-0,893	0,136	1,000	0,083
	GAP	-0,103	0,013	-0,032	0,441	0,069	0,909	0,083	1,000
p	HbA1C	,	0,143	0,130	0,405	0,025	0,436	0,031	0,298
	EDAD	0,143	,	0,346	0,024	0,265	0,350	0,052	0,473
	LPO	0,130	0,346	,	0,288	0,435	0,284	0,495	0,434
	SOD	0,405	<b>0,024</b>	0,288	,	0,198	0,052	0,301	0,008
	GPx	<b>0,025</b>	0,265	0,435	0,198	,	0,481	0,000	0,361
	CAT	0,436	0,350	0,284	0,052	0,481	,	0,241	<0,001
	SOD/GPx	<b>0,031</b>	0,052	0,495	0,301	<0,001	0,241	,	0,335
	GAP	0,298	0,473	0,434	0,008	0,361	<0,001	0,335	,

Regresión lineal múltiple, 95% de confianza. R = 0.549, R<sup>2</sup>= 0.302 p = 0.299 n=98

LPO: lipoperóxidos, SOD: Superóxido dismutasa, GPx: Glutación peroxidasa, AT: Capacidad antioxidante total, SOD/GPX: Razón SOD/GPx, GAP: Brecha antioxidante.

Cuadro IX.7. Regresión lineal múltiple para la concentración de la HbA1c y los marcadores de EOX en sujetos diabéticos

		HbA1C	EDAD	LPO	SOD	GPx	CAT	SOD/GPx	GAP
Coeficiente de Correlación	HbA1C	1,000	0,213	0,131	-0,210	0,073	-0,245	-0,116	-0,215
	EDAD	<b>0,213</b>	1,000	0,270	-0,256	0,061	-0,355	-0,125	-0,355
	LPO	0,131	<b>0,270</b>	1,000	-0,328	0,246	0,242	-0,136	0,189
	SOD	<b>-0,210</b>	<b>-0,256</b>	-0,328	1,000	-0,282	-0,046	0,201	-0,054
	GPX	0,073	0,061	0,246	-0,282	1,000	0,315	-0,600	0,323
	CAT	<b>-0,245</b>	<b>-0,355</b>	0,242	-0,046	0,315	1,000	-0,088	0,934
	SOD/GPx	-0,116	-0,125	-0,136	0,201	-0,600	-0,088	1,000	-0,124
	GAP	<b>-0,215</b>	<b>-0,355</b>	0,189	-0,054	0,323	0,934	-0,124	1,000
Significancia	HbA1C	,	0,011	0,081	0,012	0,218	0,004	0,108	0,010
	EDAD	<b>0,011</b>	,	0,002	0,003	0,257	<0,001	0,092	<0,001
	LPO	0,081	<b>0,002</b>	,	<0,001	0,004	0,005	0,074	0,021
	SOD	<b>0,012</b>	<b>0,003</b>	<0,001	,	0,001	0,312	0,016	0,284
	GPX	0,218	0,257	0,004	0,001	,	<0,001	<0,001	<0,001
	CAT	<b>0,004</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,005	0,312	<0,001	,	0,174	<0,001
	SOD/GPx	0,108	0,092	0,074	0,016	<0,001	0,174	,	0,094
	GAP	<b>0,010</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,021	0,284	<0,001	<0,001	0,094	,

Regresión lineal múltiple 95% de confianza.  $R= 0.371$ ,  $R^2 = 0.138$ ,  $p=0.023$   $n= 115$

LPO: lipoperóxidos, SOD: Superóxido dismutasa, GPx: Glutatión peroxidasa, AT: Capacidad antioxidante total, SOD/GPx: Razón SOD/GPx, GAP: Brecha antioxidante.

Cuadro IX.8. Regresión lineal múltiple para HbA1c y marcadores de PIC en sujetos sanos

		HbA1c	EDAD	LEPTINA	IL-6	FNT- $\alpha$	ADIPONECTINA
r	HbA1c	1,000	0,290	-0,453	-0,288	-0,298	0,059
	EDAD	0,290	1,000	0,051	0,043	-0,424	0,018
	LEPTINA	-0,453	0,051	1,000	0,217	-0,020	-0,643
	IL-6	-0,288	0,043	0,217	1,000	-0,424	0,225
	FNT- $\alpha$	-0,298	-0,424	-0,020	-0,424	1,000	-0,244
	ADIPONECTINA	0,059	0,018	<b>-0,643</b>	0,225	-0,244	1,000
	p	HbA1c	,	0,168	0,060	0,170	0,162
EDAD		0,168	,	0,434	0,444	0,074	0,476
LEPTINA		0,060	0,434	,	0,238	0,474	0,009
IL-6		0,170	0,444	0,238	,	0,074	0,230
FNT- $\alpha$		0,162	0,074	0,474	0,074	,	0,211
ADIPONECTINA		0,425	0,476	<b>0,009</b>	0,230	0,211	,

Regresión lineal múltiple, 95% de confianza.  $R=0.738$ ,  $R^2= 0.545$   $p= 0.257$

FNT- $\alpha$ : Factor de necrosis tumoral alfa., IL-6: Interleucina 6 n=90

Cuadro IX.9. Regresión lineal múltiple para HbA1c y marcadores de PIC en sujetos diabéticos

		HbA1c	EDAD	LEPTINA	PCR	IL-6	FNT- $\alpha$	ADIP
Coeficiente de Correlación	HbA1c	1,000	0,181	0,114	0,035	-0,139	0,167	0,386
	EDAD	0,181	1,000	0,091	0,086	0,325	0,220	0,230
	LEPTINA	0,114	0,091	1,000	-0,061	0,151	0,121	-0,087
	PCR	0,035	0,086	-0,061	1,000	0,201	-0,123	0,359
	IL-6	-0,139	<b>0,325</b>	0,151	<b>0,201</b>	1,000	0,153	0,061
	FNT- $\alpha$	0,167	<b>0,220</b>	0,121	-0,123	0,153	1,000	-0,231
	ADIP	0,386	<b>0,230</b>	-0,087	0,359	0,061	-0,231	1,000
Significancia	HbA1c	,	0,076	0,185	0,392	0,137	0,094	0,081
	EDAD	0,076	,	0,237	0,249	0,004	0,040	0,034
	LEPTINA	0,185	0,237	,	0,317	0,117	0,171	0,247
	PCR	0,392	0,249	0,317	,	0,050	0,167	0,002
	IL-6	0,137	<b>0,004</b>	0,117	<b>0,050</b>	,	0,114	0,317
	FNT- $\alpha$	0,094	<b>0,040</b>	0,171	0,167	0,114	,	0,033
	ADIP	0,081	<b>0,034</b>	0,247	0,002	0,317	0,033	,

Regresión lineal múltiple 95% de confianza.  $R = 0.542$ ,  $R^2 = 0.294$ ,  $p = 0.005$   $n = 86$

PCR. Proteína C Reactiva, IL-6: Interleucina 6. FNT- $\alpha$ : Factor de necrosis tumoral alfa,  
Adip: adiponectina.



Cuadro IX.10. Estado de salud y grupo de edad como factores de riesgo para EOx.

	RM	IC <sub>95%</sub>	p
DM2	2.1	1.2-3.8	0.015
Edad >60 años	1.6	1.1-3.3	0.020
Edad>de 60años X DM2	3.1	1.3-7.5	0.014

Análisis univariado de riesgos, RM= razón de momios, IC = intervalo de confianza al 95%

Cuadro IX.11. Estado de salud y grupo de edad como factores de riesgo para FNT- $\alpha$  elevado.

	RM	IC <sub>95%</sub>	p
DM2	12.1	5.0-28	<0.001
Edad>60 años	1.89	1.1-3.5	0.029
Edad> 60años X DM2	14.0	3.7-53.7	<0.001

Análisis univariado de riesgos, RM= razón de momios, IC = intervalo de confianza al 95%

## X. DISCUSIÓN

La DM es una enfermedad metabólica de origen endocrino considerada como un problema de salud pública en el mundo por su magnitud y trascendencia. En nuestro país es la primera causa de muerte general, además de generar un alto porcentaje de secuelas incapacitantes, tales como ceguera, insuficiencia renal crónica, e insuficiencia vascular periférica con amputaciones.<sup>19,20</sup>

En México, en 1980 fue la octava causa de muerte en población general y para 1990 ocupó el cuarto lugar, en la siguiente década, en el año 2000, se reportó como la primer causa de mortandad en la población general y en el 2001 la segunda causa de muerte para los mayores de 65 años, por lo tanto la comprensión de los mecanismos fisiopatológicos que propician las complicaciones es esencial para prevenirlas y/o retrasar su desarrollo.<sup>21</sup>

Las evidencias científicas han demostrado que el EOx y PIC están implicados en el desarrollo y complicaciones en la DM2, asimismo, se ha demostrado que dichas alteraciones bioquímicas se presentan durante el transcurso normal del envejecimiento, igualmente se ha observado que una interacción entre el EOx y el PIC favorecen y potencializan las enfermedades crónico-degenerativos de mayor prevalencia durante la vejez como es obviamente la DM tipo2.<sup>123,124</sup>

Por otro lado, debido a las similitudes fisiopatológicas entre el envejecimiento y la DM, se ha propuesto a esta enfermedad como un modelo de envejecimiento prematuro o acelerado, ya que el paciente diabético presenta cambios físicos y bioquímicos relativos a personas de mayor edad cronológica, también cursa con PIC y EOx.<sup>57</sup> Por tal motivo, en esta investigación se evaluó la relación del envejecimiento y la DM2 con el PIC y el EOx, para lo cual se determinó la frecuencia e intensidad de tales procesos en sujetos diabéticos y sanos de diferentes edades.

De los resultados de esta investigación podemos hacer varios señalamientos. Por un lado en la primera parte del análisis realizado, tenemos que sí existen diferencias entre los grupos de estudio debidas a la edad y al diagnóstico; aunque no existen diferencias significativas en los

---

---

niveles de los marcadores metabólicos del perfil lipídico o del perfil renal, observamos que al determinar marcadores como la HbA1c, la insulina y la RI, encontramos diferencias estadísticamente significativas, lo cual nos confirma la existencia de alteraciones en el metabolismo de los sujetos con DM2 con mayor intensidad en los adultos mayores, esto coincide con lo reportado en la literatura respecto a las modificaciones asociadas a la edad en relación a la disminución de la tolerancia a la glucosa y la hiperinsulinemia que se va desarrollando conforme avanza la edad, en este caso podemos observar que los sujetos diabéticos y mayores presentaron niveles de insulina significativamente superiores a los de los sujetos jóvenes diabéticos y mayor RI, lo que puede considerarse un efecto de tener más años padeciendo la enfermedad y correlaciona con niveles más altos de HbA1c; por otro lado observamos que los AMS presentan niveles elevados de insulina a pesar de no ser diabéticos, de igual forma es alto el porcentaje de AMS con hiperinsulinemia lo cual igual nos muestra un efecto de estar cursando el proceso de envejecimiento.<sup>125,126</sup>

En relación a los marcadores de EOX encontramos que los niveles de LPO son significativamente mayores en los AJS y en los AMD al compararlos con los demás grupos, lo cual podría contraponer nuestra hipótesis ya que aparentemente los AJS tienen los mismos niveles que los AMD, sin embargo es importante recordar que el EOX es un proceso dinámico en el que están involucrados varios elementos bioquímicos, y por lo tanto se debe evaluar de manera integral, de ahí que la concentración de los LPO se debe analizar considerando la actividad de los elementos antioxidantes, para determinar la presencia y grado de EOX; en este caso también observamos que la actividad de la enzima GPx en los AJS es significativamente mayor que en los demás grupos, por lo que probablemente algunos de los AJS están sufriendo un ataque oxidativo y su sistema antioxidante responde incrementando la actividad de la enzima GPx, lo cual igual altera la razón SOD/GPx que se ve disminuida pero no implica mayor EOX para estos sujetos. En este sentido, el encontrar niveles elevados de los marcadores de EOX en sujetos sanos o bien encontrar los mismos niveles en sanos y diabéticos es un dato que ha sido reportado por varios investigadores, autores como Davidson (2002), Vander Jagt (2001) y Beristain-Pérez (2006) señalan que no existe diferencia en los niveles de LPO entre diabéticos y sujetos sanos, sin embargo igual reportan diferencias o ajustes de los componentes del sistema antioxidante, lo cual confirma la necesidad de considerar de forma integral los elementos que

---

---

intervienen en el equilibrio oxidantes/antioxidantes. Por otro lado algunos autores señalan diferencias en otros marcadores de oxidación más sensibles, por lo que se propone considerar los alcances de las técnicas utilizadas, y el hacer un análisis integral.<sup>43-45, 127-129</sup>

En este sentido, al aplicar el índice elaborado para evaluar integralmente el EOX, tenemos resultados consistentes con los datos cuantitativos y concordantes con lo reportado en la literatura. Observamos que en los AJS la diferencia en los porcentajes de sujetos con niveles alterados no es significativa, y además al aplicar el índice es en este grupo donde se encuentra el mayor porcentaje de sujetos sin EOX o con EOX en grado leve, mientras en el grupo de AJD el porcentaje de sujetos con EOX leve es igual al de los AMS y el porcentaje de sujetos con EOX moderado es mayor en comparación con los AJS y los AMS, esto nos permite ver que la presencia de la DM pone a los AJ que la padecen en un grado de EOX análogo al de los AMS, que presentan ese grado de EOX por cursar la etapa de envejecimiento, por lo tanto nuestros resultados empiezan a mostrar diferencias por el diagnóstico y la edad, diferencias que se hacen más evidentes al considerar que en el grupo de AMD no sólo presenta mayor porcentaje de sujetos con EOX moderado, sino que también hay EOX severo, lo cual coincide con la propuesta de que existe un efecto aditivo de la DM y el envejecimiento sobre el grado de EOX, y además es congruente con lo reportado por la literatura, en relación a los mecanismos de EOX y envejecimiento y de EOX e hiperglucemia en la DM2. Además, esto coincide con los resultados mencionados previamente en el sentido de que en los sujetos diabéticos hay hiperinsulinemia y niveles elevados de HbA1c lo cual sugiere de forma incipiente la asociación entre la hiperglucemia crónica y el EOX.<sup>49,51,52,57,123,124, 128-131</sup>

Por otro lado, en cuanto a los marcadores del PIC medidos, observamos que fueron mayores los niveles de PCR, FNT- $\alpha$  e IL-6 en los sujetos diabéticos en comparación con los sanos en cada grupo de edad, del mismo modo al comparar el porcentaje de sujetos con niveles alterados de estos marcadores encontramos que son mayores los porcentajes en los grupos de diabéticos, no obstante que la diferencia en los niveles fue significativa sólo para el FNT- $\alpha$  existe una tendencia al estado pro- inflamatorio en los sujetos diabéticos, lo cual puede atribuirse a varios factores entre los que están la actividad endocrina del tejido adiposo (que es capaz de sintetizar y liberar citocinas) y la hiperglucemia crónica con el consecuente estímulo

---

---

de los productos derivados de la vías alternas activadas por el organismo, (la autooxidación, la glucosilación no enzimática de proteínas, la vía del sorbitol entre otras ya mencionadas), que propician la generación de radicales libres o bien la producción de AGE's que activan al sistema inmune y promueven la liberación de citocinas que a su vez estimulan la producción de proteínas de fase aguda como la PCR, generando un ambiente oxidativo e inflamatorio que se ha señalado es frecuente en los sujetos con DM 2. En este sentido nuestros resultados coinciden con otras investigaciones que reportan niveles elevados de citocinas proinflamatorias y de la PCR en sujetos con DM2.<sup>51,59-61,114</sup>

Además existen estudios longitudinales donde se han evaluado las concentraciones de IL-1, IL-6, FNT- $\alpha$  y PCR (entre otros marcadores de inflamación) y el desarrollo posterior de DM2, se ha encontrado que los sujetos que han presentado niveles elevados de dichos marcadores biológicos desarrollan posteriormente DM2.<sup>114-116</sup>

En parte esta asociación está vinculada con la obesidad, ya que el tejido adiposo sintetiza citocinas de forma activa, y tanto la IL-6 como el FNT- $\alpha$  correlacionan con el IMC, tienen efectos sobre el metabolismo lipídico y sobre la cascada de señalización de la insulina. El FNT- $\alpha$  estimula la producción de IL-6 y ésta a su vez estimula la producción de PCR además de contribuir a la hipertrigliceridemia afectando la sensibilidad a la insulina.<sup>82,86,105,109,</sup>

En cuanto a la señalización, se ha evidenciado que el FNT- $\alpha$  causa una inhibición de la autofosforilación de los residuos de tirosina del receptor de insulina y además causa la fosforilación de una serina del sustrato receptor de insulina, lo que a su vez provoca una fosforilación del receptor de insulina inhibiendo la fosforilación en la tirosina que se requiere para promover la cascada de señales para que el transportador de glucosa transloque a la membrana celular y por tanto se capte la glucosa, es decir se genera RI. Además la IL-6 por su parte inhibe la transducción de insulina en el hepatocito, efecto relacionado con el supresor de señalización SOCS-3, el cual es una proteína asociada al receptor de insulina, inhibe su autofosforilación y la fosforilación del sustrato receptor de insulina, lo que contribuye igualmente con la resistencia a la insulina.<sup>105,109,112,113,132-133</sup>

---

Así, nuestros resultados son congruentes con los mecanismos fisiopatológicos antes señalados, ya que las alteraciones bioquímicas que presentan los diabéticos propician otras modificaciones en cadena con lo que se genera un círculo vicioso, pues además del estímulo mutuo que hay entre los marcadores de inflamación, éstos y los AGE's provocan un incremento de RL al activar a las células efectoras de la respuesta inmune, a lo que se debe agregar la intervención del FN- $\kappa$ B, el cual es un factor de transcripción de moléculas como la IL-1 $\beta$ , la IL-6, el FNT- $\alpha$ , la IL-8, y moléculas de adhesión, por lo que es un modulador de la inflamación. En este sentido, el factor de transcripción es activado por los AGE's y además es extremadamente sensible al EOx, ya que la mayoría de los agentes que lo activan son modulados por especies reactivas de oxígeno o por pro-oxidantes, por lo que algunos investigadores sugieren que las especies reactivas son mediadores fisiológicos indispensables para desencadenar las reacciones que llevan a la respuesta inflamatoria, de modo que en los pacientes diabéticos se presenta inflamación asociada a obesidad, además de la hiperglucemia crónica y el EOx. En este sentido, nuestros resultados son consistentes con los aspectos teóricos y con resultados obtenidos por algunos otros investigadores, puesto que encontramos niveles más altos de PCR, FNT- $\alpha$  e IL-6 en los sujetos diabéticos, los cuales cursan hiperinsulinemia, RI y EOx.<sup>82,83,86,134-136</sup>

En cuanto a los niveles de leptina y adiponectina, no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los grupos por diagnóstico o edad, sin embargo, como se ha señalado ampliamente en la literatura los niveles de ambas hormonas son superiores en las mujeres que en los hombres independientemente de la edad, resultado con el que coincidimos.<sup>82-84,86,87</sup> Asimismo, al dicotomizar las variables, observamos que las proporciones de sujetos con hiperleptinemia e hipoadiponectinemia son mayores en los grupos de diabéticos, incluso entre los ancianos el porcentaje de hiperleptinemia es significativamente más alto. Si recordamos que en estos grupos también encontramos mayores porcentajes de sujetos con hiperinsulinemia, este resultado nos permite apoyar la propuesta de la existencia de un eje adipo-pancreático por medio del cual leptina e insulina se coordinan en la regulación del metabolismo.<sup>137-138</sup>

En cuanto a la adiponectina observamos que la concentración y porcentajes de niveles bajos por grupo de edad y diagnóstico no hubo diferencia, esto contrasta con lo señalado en la

---

---

literatura donde se reporta que las concentraciones de adiponectina son menores en los sujetos con algún padecimiento ya sea obesidad, DM o enfermedades cardiovasculares, sin embargo en nuestros resultados sólo podemos señalar que hubo una tendencia hacia la significancia estadística al dicotomizar la variable, pues el porcentaje de sujetos con hipoadiponectinemia fue menor en los sujetos sanos. <sup>139-141</sup>

Del análisis de regresión lineal múltiple obtuvimos algunos resultados que nos permiten comprender mejor las condiciones de los grupos de estudio. En el grupo de los sanos observamos que existe correlación significativa entre la HbA1c con los marcadores de EOX, por un lado hay una asociación negativa con la actividad de GPx y positiva con la razón SOD/GPx, este dato es consistente con la observación de que el EOX es producto de un sistema dinámico en el cual los elementos antioxidantes se ajustan de acuerdo a las necesidades y en este grupo observamos que aunque los sujetos no sean diabéticos y los niveles de la HbA1c estén dentro de los valores normales se manifiesta la asociación con los marcadores de EOX, lo cual se comprende mejor al observar al grupo de los diabéticos, en cuyo caso observamos que también hay asociación significativa con los componentes del sistema antioxidante, aquí la HbA1c correlaciona de forma negativa con la SOD, la CAT y el GAP, lo cual nos muestra que en este grupo el reto oxidativo puede ser más fuerte de modo que a mayores niveles de HbA1c menor actividad de la SOD que es un antioxidante celular crítico para mantener el equilibrio redox, y menor CAT Y GAP, los cuales son antioxidantes extracelulares, de modo que en los diabéticos los niveles elevados de glucosa afectan a más de un sistema antioxidante lo cual propicia EOX, que como ya vimos al aplicar el índice se presentó con mayor intensidad en este grupo por lo que es un hallazgo consistente con los demás resultados y coincide con la propuesta teórica y lo reportado en otros estudios. En este mismo grupo además encontramos que la edad correlaciona de forma significativa y positiva con los niveles de LPO y negativa con la SOD, CAT y el GAP, lo cual además nos refleja que conforme avanza la edad y se acumulan los cambios asociados al envejecimiento se incrementa la susceptibilidad al EOX que se manifiesta con mayor intensidad como ya vimos en los resultados previos en aquellos sujetos AMD que fueron los únicos que presentaron EOX severo. <sup>36-37,45,123,128-131</sup>

---

---

En cuanto a la asociación de los marcadores de inflamación con la HbA1c o la edad encontramos que en el grupo de los sanos no hay correlaciones significativas, sin embargo si encontramos una asociación inversa entre las adipocinas leptina y adiponectina, lo cual es un dato lógico ya que ambas son sintetizadas en el adiposito, pero si existe sobrepeso u obesidad los niveles de adiponectina disminuyen mientras los de leptina aumentan proporcionalmente a la adiposidad corporal, por lo cual se ha señalado que tienen una relación inversa dato que además ha sido reportado en varios estudios experimentales, con los cuales coincidimos.<sup>73,82-84,</sup>

141-143

De este mismo análisis, en el grupo de los sujetos diabéticos encontramos que hubo asociación significativa y positiva entre la edad y la IL-6, el FNT- $\alpha$  y la adiponectina; en cuanto a la IL-6 y el FNT- $\alpha$  esta asociación ha sido referida por varios estudios que han demostrado que los niveles circulantes de estas citocinas son influidos por la edad donde los factores implicados pueden ser la obesidad, la presencia de infecciones crónicas asintomáticas, la disminución de las hormonas sexuales y el genotipo. Los niveles elevados de forma persistente están asociados con la fisiopatología de diversos padecimientos crónico-degenerativos como es la DM2, artritis reumatoide, aterosclerosis, enfermedad de Alzheimer, entre otras. El FNT- $\alpha$  incluso se ha señalado como un marcador ya que se ha asociado con la mortalidad en centenarios por lo que se propone como un predictor de muerte en este grupo poblacional. En este sentido se ha propuesto el término "inflammaging" para referirse al estado inflamatorio de bajo grado, crónico y sistémico característico del envejecimiento, se propone que es resultado, entre otras cosas, de la expresión tardía del sistema inmune innato y se considera un nuevo campo de investigación que permitirá comprender la fisiopatología de los padecimientos crónicos degenerativos.<sup>70,71,132-136,144-145</sup>

En lo relacionado a la adiponectina, no se tienen reportes concretos o terminantes de su relación con la edad, considerando que se sintetiza en los adipositos y su relación es inversa al incremento de la masa adiposa, lo cual es uno de los cambios asociados al envejecimiento (simultáneo a la disminución de masa muscular) se supondría que los niveles de adiponectina disminuirían con el aumento de la edad sin embargo dado que los sistemas biológicos son dinámicos debe haber más factores involucrados en su regulación. Para poder hacer

---

---



afirmaciones habrá que realizar más estudios, ya que se ha reportado por un lado, que no hay alteraciones de la concentración de adiponectina por la edad en mujeres y por otro que existe una correlación positiva con la edad en un grupo de sujetos con DM2, resultado con el que coincidimos sin embargo como ya se mencionó habrá que comparar con las evidencias que se vayan generando en este campo.<sup>82,102-104,141,146-148</sup>

Así mismo, como producto del análisis de regresión lineal múltiple encontramos que en los sujetos diabéticos hay una asociación negativa entre la adiponectina y el FNT- $\alpha$ , dato que se ha reportado en la literatura y por el cual se le atribuyen funciones antiinflamatorias a la adiponectina así como de sensibilización de los tejidos a la insulina; uno de los varios mecanismos puede ser a través de la inhibición del FNT- $\alpha$  que como ya se mencionó interfiere las cascadas de señalización de la insulina propiciando RI, por lo tanto, nuestros resultados son concordantes con lo señalado en la literatura; igualmente respecto a la IL-6 y la correlación positiva que muestra con la PCR coincidimos con lo reportado respecto a que la IL-6 estimula la producción de PCR.<sup>81-84105-109,113,132,133</sup>

Finalmente del análisis univariado para determinación de riesgos tenemos que los sujetos que padecen DM2 tienen una vez más el riesgo de presentar EOx en comparación con los sujetos sanos y si se tiene DM2 y además se es mayor de 60 años el riesgo de presentar EOx es dos veces mayor. En cuanto a factores de riesgo para presentar niveles elevados de FNT- $\alpha$  (como marcador de PIC) se encontró que los sujetos diabéticos tienen 11 veces más el riesgo que los sanos, y del mismo modo, el ser diabético y mayor de 60 años incrementa el riesgo ya que es 13 veces más en comparación con lo sanos. Ambos resultados nos permiten confirmar los hallazgos previos respecto a que existe una relación entre la DM2 y el EOx y el PIC, lo cual se ve potenciado por la edad.

En general podemos señalar que los resultados obtenidos en el estudio apoyan nuestra hipótesis, respecto a la asociación y posible efecto aditivo entre el envejecimiento y la DM2 sobre la frecuencia e intensidad del EOx y del PIC, así mismo justifican plantear la posibilidad de continuar la línea de investigación realizando estudios de tipo longitudinal y con una muestra mayor con el objetivo de confirmar los hallazgos.

---

## XI. CONCLUSIONES

### Hipótesis

*Acorde con la información teórica disponible respecto a la asociación del proceso de envejecimiento y la DM2 con el PIC y el EOx, suponemos que los adultos mayores con DM2 mostrarán mayor proporción y grado de EOx y concentraciones significativamente más altas de leptina, IL-6, FNT- $\alpha$ , PCR, y más bajas de adiponectina, que los adultos jóvenes con DM2.*

### Conclusiones

- Se encontró mayor proporción y grado de EOx en los adultos mayores diabéticos, así como una correlación positiva de la edad con los niveles de lipoperóxidos y negativa con los antioxidantes SOD, AT y GAP, resultados que apoyan la propuesta de que el envejecimiento incrementa la intensidad del EOx en los pacientes con DM2.
- Se observaron niveles más altos de IL-6, FNT- $\alpha$  y PCR en los adultos mayores con DM2, así como las correlaciones positivas de estos marcadores con la edad, lo cual sugiere que el envejecimiento incrementa el PIC que presentan los sujetos con DM2.
- Se encontró que el ser diabético y además mayor de 60 años incrementa el riesgo para presentar EOx y niveles elevados del FNT- $\alpha$ , lo que confirma el efecto aditivo de padecer DM 2 y cursar por la etapa de vejez.

## **XII. PERSPECTIVAS**

- Los resultados obtenidos justifican el plantear darle continuidad a la investigación con el fin de corroborar los hallazgos considerando aumentar el tamaño de muestra y la realización de estudios de tipo longitudinal.
- Las evidencias obtenidas del estudio muestran la existencia de una asociación entre el EOX y el PIC con la DM y el envejecimiento, asociación que se ve incrementada por la coexistencia de ambas características; por lo cual se considera conveniente la realización de estudios clínicos controlados para evaluar el riesgo/beneficio de la administración crónica de antioxidantes y antiinflamatorios como terapia complementaria en los diabéticos para prevenir o retardar el desarrollo las complicaciones, sobre todo en los ancianos.

### XIII. REFERENCIAS

- 1.- Strehler B, North D. Cell-type specific codon usage and differentiation. *Mech Ageing Dev* 1982; 18: 285-313.
  - 2.- Secretaria de Salud. Los retos de la transición. Hipertensión, diabetes y enfermedades cardiovasculares. México: Secretaria de Salud, serie cuadernos de salud No. 3; 1994.
  - 3.- Medvedev Z. An attempt at a racional classification of theories of ageing. *Biol Rev* 1990; 65: 375-98.
  - 4.- Calatayud M. Envejecimiento celular y molecular. Teorías de envejecimiento. En: Salgado A, Guillén F. *Manual de geriatría*. Barcelona: Salvat ; 1986:1-17.
  - 5.- Hayflick L. Theories of biological ageing. *Exp Gerontol* 1985; 20:145-59.
  - 6.- Johnson B, Sinclair A. *Molecular Biology of ageing*. Cell 1999; 96:291-302.
  - 7.- Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 1956;11:298-300.
  - 8.- Harman D. The aging process. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78:7124-28.
  - 9.- Harman D. Free radical theory of ageing. *Mutat Res* 1992;275:257-66.
  - 10.- Barja G. Free radicals and aging. *TRENDS in neuroscience* 2004; 10: 595-600
  - 11.- Cutler RG. Antioxidants and ageing. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 373S-9S.
  - 12.- Sánchez-Rodríguez MA, Mendoza-Nuñez VM. Envejecimiento, enfermedades crónicas y antioxidantes. México: Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM; 2003. p. 15-79.
  - 13.- Knight JA. The aging process. In: *Laboratory medicine and the aging process*. Chicago: ASCP Press; 1996. p. 1-13.
  - 14.- Bruce R, Troen MD. The biology of aging. *Mount Sinai J Med* 2003; 70: 3-22.
  - 15.- United Nations. Population ageing 2002. Division Departamento of Economic and Social Affairs. United Nations 2002. Available from <http://www.un.org/esa/population/publication>.
  - 16.- Partida BV. Monto y estructura de la población en el año 2000 y perspectivas en el 2050. *Demos. Carta Demográfica sobre México* 2001; 1: 6-7.
  - 17.- Negrete SME. Distribución geográfica de la población mayor. *Demos. Carta demográfica sobre México* 2001; 1: 18-20.
  - 18.- Chávez A, De Chávez M, Roldán JA, Bermejo S, Ávila A. La nutrición en México y la transición epidemiológica. México: Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán"; 1993.
- 
-

- 19.- Olaíz G, Rivera J, Shamah T, Rojas R, Villalpando S, Hernández M, Sepúlveda J. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006. Cuernavaca, Mor; Instituto Nacional de Salud Pública; 2006. p. 74-77.
  - 20.- Secretaría de Salud Modificación a la Norma Oficial Mexicana, NOM-015-SSA2-1994, para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus en la atención primaria. México D.F. : Diario Oficial de la Federación, 7 de abril 2000.
  - 21.- Report of the Expert Committee on the diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 2000; 23 (1): S4-S19.
  - 22.- Wilcox G. Insulin and insulin resistance. Clin Biochem Rev 2005;26:19-38
  - 23.- Kahn B, Flier J. Obesity and insulin resistance. J Clin Invest 2000;106: 473-481.
  - 24.- Shulman G. Cellular mechanisms of insulin resistance. J Clin Invest 2000; 106: 171-77.
  - 25.- Cruz M, Velasco E, Kumate J. Señales intracelulares que intervienen en el control de la glucosa. Gac Med Méx 2001; 137: 135-46.
  - 26.- Bloomgarden ZT. The epidemiology of complications. Diabetes Care 2002; 25: 924-32.
  - 27.- Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. Nature 2000; 408: 239-47.
  - 28.- Bergendi L, Benes L, Duraccik M. Chemistry physiology and pathology of free radicals. Life Sci 1999; 65: 1865-74.
  - 29.- Moskovitz J, Yim BM, Chock BP. Free radicals and disease. Arch Biochem Biophys 2002; 397: 354-59.
  - 30.- Mc Cord J. The evolution of free radicals and oxidative stress. Am J Med 2000; 108:652-659.
  - 31.- Johanse SJ, Harris KA, Rychly DJ, Ergul A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. Cardiovascular Diabetology 2005; 4: 5-16.
  - 32.- Halliwell B, Gutteridge MC, Cross E. Free radicals, antioxidants and human disease: where are we now? J Lab Clin Med 1992; 119: 598-620.
  - 33.- Halliwell B. Reactive Oxygen species in living systems: source, biochemistry and role in human disease. Am J Med 1991; 91: 3C-14S-3C-22S.
  - 34.- González-Torres MC, Betancourt-Rule M, Ortiz-Muñiz R. Daño oxidativo y antioxidantes. Bioquímica 2000; 25: 3-9.
- 
-

- 35.- Halliwell B. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. (Letter). *Free Radic Biol Med* 1995; 18: 125-126.
- 36.- Niki E. Action of antioxidants against oxidative stress. In: Dizdaroglu M, Katarataya AE (Eds.) *Advances in DNA damage and repair*. New York: Kluwer Academic/ plenum publishers. 1999. p. 313-318.
- 37.- Gutteridge JMC. Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. *Chem-Biol Interact* 1994; 91: 133-140.
- 38.- Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicol* 2003; 189:41-54.
- 39.- Wilson JM, Walton B. Lesions and lipids and radicals-O myj. *Texas Heart Institute Journal*. 2004; 31: 118-26.
- 40.- De Zwart LL, Meerman JH, Commandeur JNM, Vermeulen PE. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Rad Biol & Med* 1999; 26: 202-226.
- 41.- Freeman B, Crapo JD. Biology of disease Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47: 412-28.
- 42.- Clapés S, Torres O, Companioni M, Villariño U, Broche F, Céspedes EM. Peroxidación lipídica y otros indicadores de estrés oxidativo en pacientes diabéticos, *Rev Cubana Inves Biomed* 2001; 20: 93-98.
- 43.- VanderJagt JD, Harrison MJ, Ratliff MD, Hunsaker LA, Vanderjagt LD. Oxidative stress indices in IDDM subjects with and without long-term diabetic complications. *Clin Biochem* 2001; 34:265-270.
- 44.- Varvarovska J, Racek J, Stetina R, Sykora J, Pomahacova R, Rusavy Z, et al. Aspects of oxidative stress in children with type 1 diabetes mellitus. *Biomed Pharmacother* 2004; 58: 539-545.
- 45.- Bathia S, Shukla R, Madhu VS, Gambhir KJ, Prabhu MK. Antioxidant status, lipid peroxidation and nitric oxide end products in patients of type 2 diabetes mellitus with nephropathy. *Clin Biochem* 2003; 36: 557-562.
- 46.- Villa-Caballero L, Nava-Ocampo A, Ponce-Monter H, Frati-Munari A. El estrés oxidativo. ¿Es necesario medirlo en el paciente diabético? *Gac Med Mex* 2000; 136: 249-255.
- 
-

- 47.- Ceriello A. New insights on oxidative stress and diabetic complications may lead to a "causal" antioxidant therapy. *Diabetes Care* 2003; 216: 1589-1596.
- 48.- Robertson PR, Harmon J, Tran OP, Tanaka Y, Takahashi H. Glucose toxicity in B-cells : type 2 diabetes, good radicals gone bad, end the glutathione connection. *Diabetes* 2003; 52: 581-587.
- 49.- Baynes WJ, Thorpe RS. Role of oxidative stress in diabetic complications. *Diabetes* 1999; 48 :1-9.
- 50.- Robertson PR, Harmon J, Tran OP, Poitout V. B-cell glucose toxicity, lipotoxicity and chronic oxidative stress in type 2 diabetes. *Diabetes* 2004; 53 (Suppl. 1):S119-124.
- 51.- Gugliucci A. Glycation as the glucose link to diabetic complications. *J Am Osteopath Assoc* 2000; 100: 621-633.
- 52.- Triana MM. La hiperglucemia y sus efectos tóxicos, un concepto patogénico para la micro y macroangiopatía diabética. *Rev Cubana Angiol Vasc* 2001, 2: 131-141.
- 53.- Beyer-Mears A, Diecke FP, Mistry K, Ellison C, Cruz E. Effect of piruvate on lens myo-inositol transport and polyol formation in diabetic catacract. *Pharmacology* 1997; 55:78-86.
- 54.- Thomas T, Porcellati F, Kato K, Stevens M, Sherman W, Greene D. Effects of glucose on sorbitol pathway activation, cellular redox, and metabolism of myo-inositol, phosphoinositide, and dyacylglycerol in cultured human retinal pigment epithelial cells. *J Clin Invest* 1994; 93: 2718-24.
- 55.- Di Mario U, Pugliese G. 15<sup>th</sup> Golgi lecture: form hyperglycaemia to the dysregulation of vascular remodelling in diabetes. *Diabetologia* 2001; 44:674-92.
- 56.- Koenig RJ, Peterson CM, Jones RL, Saudek C, Lehrman M, Cerami A. Correlation of glucose regulation and hemoglobine A1c in diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1976; 295: 417-420.
- 57.- Flecha LG, Castello PR, Gagliardino JJ, Rossi FCJ. La glucosilación no enzimática de proteínas. Mecanismo y papel de la reacción en la diabetes y el envejecimiento. *Ciencia al Día Internacional* 2000; 3: 1-17.
- 58.- Vlassara H, Palace MR. Diabetes and advances glycation end-products. *J Intern Med* 2002; 251: 87-101.
- 59.- Jakus V, Rietbrock N. Advanced glycation end products and the progress of diabetic vascular complications. *Physiol Res* 2004;53: 131-42.
- 
-

- 60.- Singh R, Barden A, Mori T, Beilin L. Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia* 2001; 44: 129-46.
- 61.- Wautier JL, Schmidt AM. Protein Glycation: a firm link to endothelial cell dysfunction. *Circ Res* 2004;95:233-38.
- 62.- Pickup JC. Inflammation and activate innate immunity in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27: 813-823.
- 63.- Punchard NA, Whelan C, Adcock J. The journal of inflammation. Editorial. *Journal of Inflammation* 2004;1:1.
- 64.- Spector WG, Willoughby DA. The inflammatory response. *Bacteriol Rev*; 1963;27:117-149.
- 65.- Roitt I, Male D, *Inmunología. España: Elsevier*; 2003:281-290.
- 66.- Goldsby RA, Kindt T, Osborne B, Kuby J. *Inmunología. México: McGraw-Hill Interamericana*;2004:357-380.
- 67.- Meager A. *The Cytocine concept in: Cytokine. New Jersey: Prentice Hall Advenced Referente Series*; 1991: 1-19.
- 68.- Brüünsgaard H, Pedersen BK. Age-related inflammatory cytokines and disease. *Immunol Allergy Clin N Am* 2003; 23:15-39.
- 69.- Forsey RJ, Thompson JM, Ernerudh J, Hurst TL, Strindhall J, Johansson B, Nilsson B, Wikby A. Plasma cytokine profiles in elderly humans. *Mechanisms of Ageing and Development* 2003; 124: 487-93.
- 70.- Ershler W, Keller ET. Age-associated increased interleukin 6 gene expression, late-life diseases and frailty. *Annu Rev Med* 2000, 51: 245-70.
- 71.- Giunta S. Is inflammaging an auto(innate) immunity subclinicak syndrome? *Immunity & Ageing* 2006; 3:12-13.
- 72.- González-Hita M, Bastidas-Ramírez BE, Ruiz-Madrigal B, Godínez S, Pandero A. Funciones endocrinas de la célula adiposa. *Rev End Nutr* 2002; 10: 140-146.
- 73.- Meier U, Gressner AM. Endocrine regulation of energy metabolism: review of pethobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin and resistin. *Clin Chem* 2004; 50: 1511-1525.
- 74.- Bierhaus A, Humpert P, Morcos M, Wendt T, Chavakis T, Arnold B, Stern D, Nawroth P. Understanding RAGE, the receptor for advenced glycation end products. *J Mol Med* 2005; 83: 876-86.
- 
-



- 75.- Yang F, Ramasamy R, Naka Y, Schmidt AM. Glycation, inflammation and RAGE A scaffold for the macrovascular complications of diabetes and beyond. *Circ Res* 2003; 93: 1159-69.
- 76.- Schmidt AM, Yan SD, Yan SF, Stern D. The biology of the receptor for advanced glycation end products and its ligands. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2000; 1498: 99-111.
- 77.- Wautier JL, Guillausseau PJ. Advanced glycation end-products, their receptors and diabetic angiopathy. *Diabetes Metab* 2001; 27: 535-42.
- 78.- Yanekura H, Yamamoto Y, Sakurai S, Watanabe T, Yamamoto H. Role of the receptor advanced glycation end-products in diabetic induced vascular injury. *J Pharmacol Sci* 2005, 97: 305-11.
- 79.- Schmidt AM, Yan SH, Wautier JL, Stern D. Activation of receptor for advanced glycation end products: a mechanism for chronic vascular dysfunction in diabetic vasculopathy and atherosclerosis. *Circ Res* 1999; 84: 489-97.
- 80.- Abdel-Khalek M, Bierhaus A, Schiekofler S, Tritschler H, Ziegler R, Nawroth P. The role of oxidative stress and NF-kB activation in the late diabetic complications. *Bio Factors* 1999; 10:156-67.
- 81.- Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress and diabetes. *J Clin Invest* 2005; 115:1111-19.
- 82.- Frübeck G, Salvador J. Role of adipocytokines in metabolism and disease. *Nutrition Research* 2004;24: 803-826.
- 83.- Guerre-Millo M. Adipose tissue and adipokines: to better or worse. *Diabetes Metab* 2004; 30:13-9.
- 84.- Klein J, Perwitz N, Kraus D, Fasshauer M. Adipose tissue as source and target for novel therapies. *Trends in endocrinology and metabolism* 2005;20: 1-7
- 85.- González-Hita M, Bastidas-Ramírez BE, Ruiz-Madrugal B, Godínez S, Pandero A. Funciones endocrinas de la célula adiposa. *Revista de endocrinología y nutrición* 2002; 10: 140-6.
- 86.- Canello R, Tounian A, Poitou Ch, Clément K. Adiposity signals, genetic and body weight regulation in humans. *Diabetes Metab* 2004; 30: 215-27.
- 87.- Havel PJ. Update on adipocyte hormones. *Diabetes* 2004; 53 (S1): 143-51.
- 88.- Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372:425-32.
- 
-

- 89.- Bado A, Levasseur S, Attoub S, Kermorgant S, Laigneau JP, Bortoluzzi M, et al. The stomach is a source of leptin. *Nature* 1998; 394: 790-793.
  - 90.- Wiliding J, Widdowsan P, William G. *Neurobiology*. *Brit Med Boul* 1997; 53: 286-306
  - 91.- Baile CA, Della-Fera MA, Martin RJ. Regulation of metabolism and body fat mass by leptin. *Annu Rev Nutr* 2000; 20: 105-27.
  - 92.- Schwartz MW, Seeley RJ, Campfield LA, BurnP, Baskin GD. Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus. *J Clin Invest* 1996; 98: 1101-06.
  - 93.- Friedman JM, Halaas JL. Leptin and regulation of body weight in mammals. *Nature* 1998; 395: 763-70.
  - 94.- Gura T. Tracing leptin's partners in regulating body weight. *Science* 2000; 287:1738-41.
  - 95.- Caro Jf, Kolaczynski JW, Nyce MR, Ohannesian JP, Opentanaua I, Goldman WH et el. Decreases cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a posible mechanism of leptin resistance. *Lancet* 1996; 348: 159-61.
  - 96.- Yildiz B, Haznedaroglu I. Rethinking leptin and insulin action: therapeutic opportunities for diabetes. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2005; in press.
  - 97.- Ceddia BR, Koistinen HA, Zierath RJ, Sweeney G. Analysis of paradoxical observations on the association between leptin and insuline resistance. *FASEB J* 2002; 16: 1163-1176
  - 98.- Unger RH. The physiology of cellular liporegulation. *Annu Rev Physiol* 20003; 65: 333-47.
  - 99.- Meyers JA, Mc Tiernan A, Ulrich CM. Leptin and immune function: integrating the evidence. *Nutrit Res* 2005; 25: 791-803.
  - 100.- Fantuzi C, Faggioni R. Leptin I the regulation of immunity, inflammation and hematopoiesis. *J leukoc Biol* 2000; 68: 437-46.
  - 101.- Juge-Aubry CE, Meier CA. Immunomodulatory effects of leptin. *Molechular and Cellular Endocrinology* 2002; 194: 1-7.
  - 102.- Berg A, Combs T, Scherer P. ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends in endocrinology and metabolism*. 2002; 13:84-91
  - 103.- Kadowaki T, Yamauchi T.- Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocrin Rev* 2005;26:439-51.
  - 104.- Fasshauer M, Paschke M, Stumvoll M. Adiponectin, obesity and cardiovascular disease. *Biochimie* 2004; 86: 779-784
- 
-

- 105.- Nawrocki A, Scherer P. The delicate balance between fat and muscle: adipokines in metabolic disease and musculoskeletal inflammation. *Current opinion in pharmacology* 2004; 4:281-289
- 106.- Beltowski J. Adiponectin and resistin- new hormones of white adipose tissue. *Med Sci Monit* 2003; 9: RA55-61.
- 107.- Wiecek A, Kokot F, Chudek J, Adamczak M. The adipose tissue- a novel endocrine organ of interest to the nephrologists. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17:191-95.
- 108.- Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K. Adiponectin and adiponectina receptors in insuline resitance, diabetes and the metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2006; 116: 1172-92.
- 109.- Dinarello AC. Proinflammatory cytokines. *CHEST* 2000; 118:503-8.
- 110.- Spranger J, Kroke A, Möling M, Hoffman K, Bergmann M, Ristow M, Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes. *Diabetes* 2003; 52:812-17.
- 111.- Bierhaus A, Schiekofer S, Schwaninger M, Andrassy M, Humpert P, Chen J, Hong M, et al. Diabetes-associated sustained activation of the transcription factor nuclear Factor-kB. *Diabetes* 2001; 50: 2792-2802.
- 112.- Bonet BM, García-Lord P, Argelés JM, Salas-Salvado J. Papel del factor de necrosis tumoral en el control de las reservas grasas y la obesidad. *Med Clin (Barc)* 2000; 114: 624-30.
- 113.- Paolisso G, Rizzo MR, Mazziotti G, Tagliamonte MR, Gambardella A, Rotondi M, et al. Advancing age and insuline resistance: role of plasma tumor necrosis factor –  $\alpha$ . *Am J Physiol* 1998; 275: 294-99.
- 114.- Nakanishi S, Yamane K, Kamei N, Okubo M, Kohno N. Elevated C reactive protein is a risk factor for the development of type 2 diabetes in japanese americans. *Diabetes Care* 2003; 26: 2754-2757.
- 115.- King D, Mainous A, Buchanan T, Pearson W. C- Reactive protein and glycemic control in adults with diabetes. *Diabetes Care* 2003; 26: 1535-1539.
- 116.- Han TS, Sattar N, Williams K, Gonzalez-Villalpando C, Lean EJM, Haffner MS. Prospective study of C-reactive protein in relation to the development of diabetes and metabolic syndrome in the Mexico City diabetes study. *Diabetes Care* 2002; 25: 2016-2021.
- 117.- Capote KR, Miranda EC. Estrés Oxidativo y envejecimiento. *Rev Cubana Invest Biomed* 19999; 18: 67-76.
- 
-

- 118.- Cadena E, Davies JA. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress and ageing. *Free Rad Biol Med* 2000; 29: 222-30.
- 119.- Retana-Ugalde R, Altamirano-Lozano M, Mendoza-Núñez VM, Molina-Alvarez B. Daño en el ADN como posible factor de fragilidad en el envejecimiento. *Tópicos de investigación y posgrado* 1997; 5: 180-4.
- 120.- Secretaria de Salud, Norma Oficial Mexicana NOM-030-SSA2-1999, para la prevención, tratamiento y control de la hipertensión arterial. México D.F. : Diario Oficial de la Federación, 5 de abril de 2000.
- 121.- Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Taylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insuline resistance and B-cell function from fasting plasma glucose and insuline concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28: 412-419.
- 122.- Jentsch A, Bachmann H, Fürst P, Bielsalski H. Improved analisis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Rad Biol* 1996; 20: 251-256.
- 123.- Aguirre F, Martin L, Grinspan D, Ruíz M, Hager A, De Paoli T et al. Oxidative damage, plasma antioxidante capacity and glucemic control in elderly NIDDM patients. *Free Radic Biol Med* 1998; 24: 580-585.
- 124.- Evans JL, Glodfire JD, Maddux BA, Grodsky GM. Are oxidative estress actived signaling pathways mediators of insuline resistance and B-cells disfunction? *Diabetes* 2003; 52: 1-8.
- 125.- Morley JE. An overview of diabetes mellitus in older persons. *Clin Geriatr Med* 1999; 15: 211-24.
- 126.- Moller N, Gormsen L, Fuglsang J, Gjedsted J. Effects of ageing on insuline secretion and action. *Horm Res* 2003; 60S; 102-4.
- 127.- Davison G, George L, Jackson SK, Young IS, Davies B, Bailey DM et al. Exercise, free radicals, and lipid peroxidation in type 1 diabetes mellitus. *Free Radic Biol Med* 2002; 33: 1543-1551
- 128.- Beristín-Pérez AS, Sánchez-Rodríguez MA, Ruiz-Ramos M, Mendoza-Núñez VM. Estrés oxidativo como factor de riesgo para el desarrollo de diabetes mellitus, osteoartritis o hipertensión arterial en adultos mayores. *Bioquimia* 2006; 31: 13-22.
- 129.- Saxena R, Madhu SV, Shukla R, Prabhu KM, Gambhir JK. Postpandrial hipertriglyceridemia and oxidative stress in patients of diabetes mellitus 2 with macrovascular complications. *Clin Chem Acta* 2005;11: 245-53
- 
-

- 130.- Bhatias S, Shukla R, Venkata S, Gambhir K, Prabhu K. Antioxidant status, lipid peroxidation and nitric oxide end products in patients of type 2 diabetes mellitus with nephropathy. *Clinical Biochemistry* 2003; 36: 557-62.
- 131.- Marra G, Cotroneo P, Pitoco D, Manto A, Di Leo M, Ruotolo V, et al. Early increase of oxidative stress and reduced antioxidant defenses in patients with uncomplicated type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2002; 25: 370-375
- 132.- Cheng YH, Kim JH, Kim WK, Choi SJ, Yu PB. Molecular inflammation hypothesis of aging based on the anti-aging mechanism of calorie restriction. *Microsc Res Tech* 2002; 59: 264-272.
- 133.- Kiecolt-Glaser J, Preacher JK, MacCallum CR, Atkinson C, Malarkey BW, Glasier R. Chronic stress and age-related increases in the proinflammatory cytokine IL-6. *PNAS* 2003; 100: 9090-9095.
- 134.- Bulló M, Garía-Lorda P, Megias I, Salas-Salvado J. Systemic inflammation, adipose tissue tumor necrosis factor, and leptin expression. *Obes Res* 2003; 525-32.
- 135.- Katsuki A, Sumida Y, Murashima S, Murata K, Takarada Y, Ito K, Fujii M, Tsuchihashi K, Goto H, Nakatani K, Yano Y. FERUM levels of tumor necrosis factor alfa are increased in obese patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Endocrinol Metab* 1998; 83: 859-62.
- 136.- Stentz F, Umpierrez GE, Cuervo R, Kitabchi A. Proinflammatory cytokines, markers of cardiovascular risk, oxidative stress, and lipid peroxidation in patients with hyperglycemic crises. *Diabetes* 2004; 53: 2079-86.
- 137.- Ceddia RB, William WN, Carpinelli AR, Curi R. Modulation of insulin secretion by leptin. *Gen Pharmacol* 1999; 32:233-237.
- 138.- Kieffer TJ, Habener JF. The adipoinsular axis effects of leptin on pancreatic beta-cells. *Am J Physiol* 2000; 278: 1-14.
- 139.- Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1595-99.
- 140.- Silha J, Kresek M, Skrha J, Sucharda P, Nyomba B, Murphy L. Plasma resistin, adiponectin and leptin levels in lean and obese subjects: correlation with insulin resistance. *Eur J Endocrinol* 2003; 149: 331-335
- 
-

141.- Kanaya AM, Harris T, Goodpaster B, Tylavsky F, Cummings S. Adipocytokines attenuate the association between visceral adiposity and diabetes in older adults. *Diabetes Care* 2004; 27: 1375-80.

141.- Ryan AS, Berman D, Nicklas BJ, Gingerich RL, Meneilly GS, Egan JM, Elahi D. Plasma adiponectina and leptin levels, body composition, and glucose utilization in adult women with wide ranges of age and obesity. *Diabetes Care* 2003; 26: 2383-88.

142.- Hotta K, Funahashi T, Arita y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, Iwahashi H, et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectina, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1595-99.

143.- Stejskal D, Ruzicka V, Adamovska S, Jurakova R, Proskova J, Jedelski L, Bartek J. Adiponectin concentrations as criterion of metabolic control in persons with type 2 diabetes mellitus? *Biomed Papers* 2003; 147: 167-72.

144.- Pedersen M, Bruungaard H, Weis N, Blendel HW, Andreassen UB, Eldrup E, et al. Circulating levels of TNF- $\alpha$  and IL-6 relation to truncal fat mass and muscle mass in healthy elderly individuals and in patients with type 2 diabetes mellitus. *Mech Ageing Dev* 2003; 124:495-502.

145.- Bruunsgaard H, Andersen-Ranberg K, Hjelmberg B, Pedersen BK, Jeune DM. Elevated levels of tumor necrosis factor alpha and mortality in centenarians. *Am J Med* 2003; 115: 278-83.

146.-Bik W, Baranowska-Bik A, Wolinska-Witort E, Martynska L, Chmielowska M, Szybiska A, et al. The relationship between adiponectina levels and metabolic status in centenarian, early elderly, young obese women. *Neuro Endocrinol Lett* 2006; 27: 4-11

147.-Cnop M, Havel PJ, Utzschneider KM, Carr DB, Sinha MK, Boyko EJ, et al. Relationship of adiponectina to body fat distribution, insuline sensitivity and plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and sex. *Diabetologia* 2003; 46: 459-69.

148.- Daimon M, Oizumi T, Saitoh T, Kameda W, Hirata A, Yanaguchi H, Ohnuma H, Igarashi M, Tominaga M, Kato T. Decreased serum levels of adiponectina are a risk factor for the progression to type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetes Care* 2003; 26:2015-20.

---

---