



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
CAMPUS IZTACALA**

BO 1272/96
Ej. 3

**EFFECTO DE LA VITAMINA E EN LA GLICACION
DE LAS PROTEINAS DEL SUERO EN PACIENTES
CON DIABETES MELLITUS**

T E S I S

QUE, PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A N :

**EVA GABRIELA RODRIGUEZ PADILLA
OCTAVIO BENJAMIN PEREZ ORTIZ**

ASESORA: DRA. VICTORIA E. VALLES SANCHEZ



TLALNEPANTLA, EDO. DE MEXICO,

1996



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.

CAMINO

Este camino es de polvo y de piedra
y entre montes y collados serpentea,
cubierto de cardos, abrojos y lajas que
cortan los pies de quien al pasar se lanza.

Este camino es de polvo y de piedra
y a su vera el agua es escasa
el polvo a la garganta seca
y la piedra a la intrepidez quebranta.

Este camino es de piedra, Señor
y creo que la senda no podré terminarla,
pues no hallo sombra en la vereda
que su fresco de y me de la calma.

Este camino es de polvo y de piedra,
dura superficie de textura árida,
en donde la vida muere
y en donde el esfuerzo falla.

Este camino es de polvo y piedra
es el que por donde todos pasan
es la vida misma, mi amor,
en donde comienza y en donde acaba.



AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Investigación del Departamento de Diabetes y Metabolismo de Lípidos del Instituto Nacional Salvador Zubirán, bajo la dirección de la Dra. Victoria Eugenia Valles Sánchez, a quien le expresamos nuestro agradecimiento por habernos dado la oportunidad y el espacio para realizarlo.

Para este estudio se contó con el apoyo de los Laboratorios Searle de México S.A. quienes aportaron el apoyo económico para la realización del proyecto del cual emana este trabajo.

Agradecemos a los profesores que realizaron la revisión del presente trabajo y cuyos comentarios acertados ayudaron al mejoramiento de éste trabajo escrito.

M. en C. Ignacio Peñalosa

M. en C. Héctor Barrera

M. en C. Ramón V. Moreno

M. en C. Sergio González

DEDICATORIAS

A mis padres Carlos Rdz. y Celia Padilla

de quienes he recibido todo su amor, comprensión,
confianza y respeto, enseñándome el valor que esto tiene
y es por ellos por lo que día a día trato de ser mejor.
Gracias por su apoyo.

A mi hermano Carlos Alberto

por motivación para que éste trabajo fuera una realidad.
Gracias por hacer de esto un reto.

A Octavio Benjamín Pérez Ortiz

de quien siempre he recibido confianza,
paciencia, apoyo y comprensión
y quien es parte importante de mi vida.

A Alejandra Rosales,

entrañable amiga en quien siempre he confiado por su buen juicio.

A Patricia M., Yolanda R., Arturo M. y Antonio O.

por sus atenciones, amistad y cariño.

A mi queridísimo amigo Enrique Morales Bojórquez

a quien siempre le agradeceré el haberme animado
a tomar una gran decisión, resultando de ésta una bella
e increíble relación.

Dedico éste trabajo a mi familia.

A mi padre Héctor Pérez Hernández, quien a pesar de no estar en este plano existencial, ha permanecido siempre en mi corazón.

A mi madre Mercedes Ortiz Valdez de quien he recibido siempre su gran amor y apoyo incondicional.

A mis hermanos Mercedes, Héctor y Joaquín, quienes me hacen recordar que no estoy solo en este universo.

A Eva Gabriela Rodríguez Padilla, coautora de éste trabajo, quien siempre supo mantener la cordura y el equilibrio durante estos años y quien, independientemente del devenir, ha marcado un hito de amor en mi vida.

Aprovecho para recordar a mis amigos, los pocos que aún quedan:

Alvaro Manuel García Moar, Cristina Guerrero, María Elena Polanco y José Juan Ibarra Pascualli, cuya amistad hace más llevadera ésta vida.

INDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	4
ANTECEDENTES.....	24
OBJETIVOS.....	31
MATERIAL Y MÉTODO.....	33
RESULTADOS.....	47
DISCUSIÓN.....	82
CONCLUSIONES.....	92
BIBLIOGRAFIA.....	93

LISTA DE ABREVIATURAS

DM	Diabetes mellitus
LDL	Low Density Lipoprotein, Lipoproteína de baja densidad.
GNE	Glicación no enzimática.
SSA	Secretaría de Salud y Asistencia.
FUNSALUD	Fundación Mexicana para la Salud.
DMID	Diabetes mellitus insulino dependiente.
DMNID	Diabetes mellitus no insulino dependiente.
APO A	Apolipoproteína A-I.
APO B	Apolipoproteína B-100.
HDL	High Density Lipoprotein, Lipoproteína de alta densidad.
VLDL	Very Low Density Lipoprotein, Lipoproteína de muy baja densidad.
LCAT	Lecitin colesterol-acil transferasas.
LL	Lipasa de las lipoproteínas.
HF	Hipercolesterolemia familiar.
EDTA	Acido Etilen Diamino Tetracético.
DETAPAC	Dietilentriaminopentanoácido acético.
NBT	Nitro Blue Tetrazolium, Nitro azul de tetrazolio.

HbA1c	Hemoglobina glicada
ANOVA	Análisis de Varianza.
IMC	Índice de masa corporal.
IC	Intervalo de confianza.
CV	Coefficiente de Variación.
PGA	Productos avanzados de glicación.
PVS	Polivinil sulfato.

RESUMEN

En pacientes con diabetes mellitus (DM) un estado crónico de hiperglicemia provoca que el nivel de glicación no enzimática de las proteínas del suero se encuentre elevado. Esta reacción comienza con la unión no enzimática de la glucosa con los grupos amino libres de las proteínas o de los péptidos de la sangre, comenzando el proceso con una base de Schiff lábil, que a su vez experimenta un rearrreglo químico dando lugar a los productos de Amadori también llamados fructosamina, que se han relacionado directamente con las complicaciones crónicas de los pacientes con ésta enfermedad. Esta modificación química de tipo no enzimático trae como consecuencia, alteraciones estructurales y funcionales de éstas proteínas provocando disfunciones en su metabolismo y de los lípidos relacionados con las mismas, como lo son el colesterol y los triglicéridos. Se ha reportado (61, 62) que la glucosa es capaz de formar cetoaldehídos por un proceso de oxidación y éstos se unen de forma covalente a las proteínas, contribuyendo de manera substancial a su glicación. Este proceso puede inhibirse mediante el empleo de diversos agentes, entre ellos, los quelantes y antioxidantes como los son los tocoferoles (vitamina E). Al inhibirse el proceso de glicación no enzimática con el uso de la vitamina E, podría plantearse como un recurso terapéutico eficaz en la

prevención de los factores que condicionan la aparición de las complicaciones crónicas en la diabetes mellitus.

Por tal motivo, nuestro objetivo fué el investigar los efectos de la vitamina E (α -tocoferol) sobre la glicación no enzimática de las proteínas del suero (fructosamina), de la hemoglobina, y sobre los niveles de colesterol total, triglicéridos, colesterol-LDL, colesterol-HDL, apolipoproteína A-I, apolipoproteína B-100, contando para ello con sesenta pacientes diabéticos con descontrol metabólico crónico quienes fueron asignados al azar para recibir 1200 mg/día de vitamina E o cápsulas idénticas de un placebo durante dos meses cada una, siguiendo un diseño doble ciego cruzado con un período de lavado entre cada régimen terapéutico. 9 pacientes fueron excluidos por razones no relacionadas con los medicamentos. En los 51 pacientes restantes los niveles de glicemia, fructosamina, HbA_{1c}, colesterol total, colesterol-LDL, colesterol-HDL, apolipoproteína A-I, apolipoproteína B-100 no mostraron variaciones significativas con la vitamina E en comparación con el placebo.

Trabajos previos han reportado una disminución dependiente de la dosis de vitamina E en la fructosamina y hemoglobina glicada (HbA_{1c}) después de la administración de 600 o 1200 mg de vitamina E. Sin embargo, los resultados

obtenidos en el presente trabajo no concuerdan con lo hallado en los estudios arriba mencionados pero si con los obtenidos Reaven et al (90).

Podemos concluir de éste trabajo que no se observaron efectos significativos de la vitamina E en pacientes con diabetes mellitus descontrolados, en las concentraciones de glicemia, fructosamina, HbA_{1c}, en comparación con el placebo. Tampoco se observaron variaciones significativas que mejoraran la condición del paciente en las concentraciones de lípidos presentes en el suero como el colesterol total, colesterol-LDL, colesterol-HDL, triglicéridos, apolipoproteínas A-I y apolipoproteínas B-100.

INTRODUCCION

Durante éste siglo, países en vías de desarrollo como México han experimentado una transición tanto en los hábitos de vida como en los de consumo, ya que de predominantemente rural ha habido un cambio a significativamente urbano. Esto ha traído grandes transformaciones y adelantos en el campo de la salud, sin embargo, aún se mantienen grandes rezagos que impiden que los beneficios de estos logros lleguen a todos los habitantes y por el contrario propicien cambios en los hábitos nutricionales que se encuentran directamente ligados con la salud. Por tal motivo, se observa en las enfermedades crónicas un incremento en su frecuencia de aparición, aunado a esto, se encuentra la predisposición genética que en estas condiciones estimulan el desarrollo de tales enfermedades, llegando al punto de que muertes por hipertensión arterial, dislipoproteinemias y diabetes mellitus ocupen un lugar importante dentro del total de las defunciones que en un país se dan.

La diabetes mellitus (DM) está caracterizada por diversos síntomas clínicos originados por la deficiente actividad de la insulina, éste trastorno es un grupo heterogéneo de alteraciones que llevan a un estado constante de hiperglicemia (1).

La DM ha sido considerada por la Organización Mundial de la Salud (O.M.S.) desde 1940 como un problema de salud a nivel mundial (2). Se tiene el dato de que la DM afecta al 5 % del total de la población de los Estados Unidos y que es la 5a. causa principal de muerte en ese país (3). En México estudios realizados hace treinta años por el doctor Salvador Zubirán, reflejaron que la prevalencia de la DM era menor al 4% (4). En otros estudios se ha encontrado en hombres de la Cd. de México una prevalencia de la DM del 10.6% y en mujeres del 14.8% (5). Sin embargo, en el estudio más reciente (Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas) realizado en conjunto por el Instituto de Epidemiología de la SSA y el Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán, dió como resultado que la prevalencia de la DM en la población de México es del 8.2% (6). Esto indica que en este período de 30 años, se ha duplicado el porcentaje de la población que presenta esta enfermedad.

También se sabe que en el caso de los méxico-estadounidenses presentan una prevalencia dos a tres veces más alta que la población negra o blanca no hispana (7). Todo esto sitúa a los mexicanos como una población muy susceptible a la D.M.

Debe ser tomado en cuenta de que la DM junto con el tabaquismo, la hipertensión arterial y las dislipoproteinemias, son factores de riesgo para el

desarrollo de aterosclerosis, que también constituye una de las complicaciones crónicas de la DM.

A principios de siglo no era posible discutir sobre las complicaciones crónicas de la DM por que los pacientes no vivían lo suficiente para desarrollarlas, puesto que morían por cetoacidosis o más tarde por infecciones. Con el advenimiento de la insulina la mayoría de los pacientes diabéticos aumentaron su esperanza de vida; sin embargo, no puede decirse lo mismo sobre la calidad de ésta, porque ahora mueren por las complicaciones crónicas de la DM como son las cardiopatías, renopatías, angiopatías, etc. (2, 8).

La DM es un síndrome clínico que puede obedecer a distintas causas y existen tanto formas primarias como secundarias de la enfermedad. Las primarias son aquellas en las que no hay asociación con otra condición que las cause o las modifique, son el resultado de una susceptibilidad individual determinada genéticamente para expresar la enfermedad (9).

De acuerdo con la Fundación Mexicana para la Salud (FUNSALUD) la DM se clasifica en: Insulinodependiente y No Insulinodependiente (11). Una serie de estudios de grupos familiares parece indicar que los dos grupos obedecen a razones genéticas (12).

DIABETES MELLITUS Y ATEROSCLEROSIS.

La aterosclerosis, una complicación de la DM conlleva manifestaciones consistentes en el engrosamiento de la túnica íntima de la arteria como resultado de depósitos de material lipóide en ella, a lo que se denomina placas ateromatosas o ateromas (1, 14, 15). Estos se producen principalmente en zonas donde la circulación es turbulenta y no afecta las regiones en que existe una baja tensión arterial (14).

Además, suelen atacar la aorta abdominal y las arterias principales de las piernas en mayor grado que la torácica, surgiendo también en las arterias coronarias, cerebrales y periféricas (1).

Mediante el estudio en diversas especies ha sido posible hallar denominadores comunes al desarrollo de aterosclerosis: 1) niveles elevados de colesterol en suero, y 2) alteración de la relación de las lipoproteínas α : β en favor de un aumento de colesterol en las lipoproteínas β .

En los diabéticos, la aterosclerosis se presenta de forma idéntica a la que presentan los no diabéticos, pero de manera precoz (14).

La DM ha sido identificada como un factor de riesgo en el desarrollo de aterosclerosis, independientemente de otros factores de riesgo los cuales frecuentemente coexisten como hipertensión y dislipoproteinemias (16). La acelerada aterosclerosis del diabético aún no está del todo entendida. Una posible explicación es que existe un incremento de modificaciones de tipo químico postsintéticas de las Apoproteínas de las lipoproteínas, entre las cuales se halla la modificación de la LDL (lipoproteína de baja densidad) por oxidación, glicación del componente proteico o ambas que pueden inducir daño endotelial y acelerar la formación de células espumosas (foam cells) en la íntima arterial (17). Se ha demostrado que ocurren *in vivo* varios tipos de modificaciones químicas, como la glicación no enzimática (GNE) de la apo B (apolipoproteína B-100) de la LDL que se lleva a cabo en mayor medida en diabéticos con hiperglicemia crónica (17, 18), que puede inducir la lesión endotelial (18, 19, 20, 21, 22), en contraste con la LDL nativa que no estimula la formación de células espumosas (foam cells) (20).

PAPEL DE LA INSULINA EN LA REGULACION DE LA GLUCOSA SANGUINEA.

La hormona insulina juega un papel central en la regulación de la concentración de la glucosa sanguínea. Esta hormona es producida por las células β

de los islotes de Langerhans del páncreas y es secretada a la sangre en respuesta directa a la hiperglicemia. Su concentración en la sangre es paralela a la de la glucosa sanguínea. La biosíntesis de insulina también se estimula con arginina, leucina, manosa, etc. y se inhibe con la adrenalina y otras hormonas antagónicas (23).

En la diabetes mellitus la glicemia está anormalmente alta debido a la falta de la acción insulínica a nivel celular. Este defecto puede deberse bien a una mala función de las células β , dando lugar a la falla total o parcial en la síntesis y/o secreción de insulina como en la diabetes mellitus insulino dependiente (DMID o DM tipo I) o bien a una combinación de una secreción "perezosa" de insulina por parte de la célula β con una reducción asociada en la respuesta celular a la insulina, como en la diabetes mellitus no insulino dependiente (DMNID o DM tipo II) (1, 14, 23).

La disminución de la respuesta a nivel celular puede deberse a una reducción en la afinidad o en el número de receptores de insulina (defecto en el receptor) y/o a la incapacidad de la insulina para poner en marcha los procesos bioquímicos intracelulares normales (defecto postreceptor). Esto trae por consecuencia la alteración del metabolismo celular, siendo la hiperglicemia la consecuencia más

evidente, aunque hay también trastornos profundos en el metabolismo lipídico y proteico (23). Este factor constante de hiperglicemia es un factor causante de las modificaciones químicas de las proteínas del suero que altera su estructura y función.

IMPORTANCIA DEL COLESTEROL

En el suero humano se encuentran 4 categorías principales de lípidos, como ácidos grasos libres, triglicéridos, colesterol y fosfolípidos, en mayor proporción (24).

A diferencia de otros lípidos, el colesterol no participa como lípido energético, además de que puede ser sintetizado en el organismo por lo que no es un nutrimento dietético esencial. Los alimentos que lo contienen son de origen animal: sesos, vísceras, huevos, leche, etc. Los vegetales están libres de colesterol (25). La importancia nutricional del colesterol se deriva del hecho de que ha sido relacionado con enfermedades cardiovasculares como la aterosclerosis (10, 13, 14, 18).

El colesterol esterificado tiene como función la de ser reserva, depositándose principalmente en el tejido adiposo, hepático, gónadas, corteza suprarrenal y patológicamente en la pared arterial (25).

GENERALIDADES DE LIPOPROTEINAS.

Las lipoproteínas del plasma son complejos que transportan lípidos insolubles en agua entre los diversos órganos a través de la sangre. La parte protéica de las lipoproteínas contienen globulinas. Estas proteínas, una vez separadas de los lípidos reciben el nombre de apolipoproteínas o apoproteínas (APO) (14, 28, 29). La estructura de éstas macromoléculas está sujeta a cambios constantes, los que son consecuencia de interacciones entre ellas, con las enzimas y con los receptores.

Además, existe hacia el plasma un ingreso continuo de partículas nacientes y una remoción constante de partículas viejas. Estos movimientos dan como resultado una gran heterogeneidad en las moléculas de lipoproteínas.

Los lípidos no polares, como los triglicéridos y los ésteres de colesterol, son transportados en la parte central de la molécula esférica de la lipoproteína. El colesterol que contiene un grupo hidroxilo polar, soluble en agua, es uno de los componentes de la monocapa que constituye la superficie de las lipoproteínas. El resto de la molécula de colesterol, que es insoluble, se localiza en el centro de la molécula de la lipoproteína. Cada una de las lipoproteínas posee una o más de las apoproteínas que tienen varias regiones helicoidales con propiedades anfipáticas.

Las regiones no solubles penetran en el núcleo no polar de la lipoproteína y las regiones solubles se encuentran en la superficie en contacto con el ambiente acuoso.

Cada apoproteína posee determinantes específicos que le permiten funcionar como cofactor de las enzimas o como ligando con los receptores de las superficies celulares. Por lo tanto, las apoproteínas juegan un papel importante en las lipoproteínas, desde los puntos de vista estructural y funcional (30, 31).

Se ha observado que la medición de las concentraciones de las apolipoproteínas A-I y B-100 están en relación al desarrollo de enfermedades cardíacas y que el determinar éstos dos componentes del suero puede ser más útil que el sólo medir el colesterol total, el colesterol HDL y colesterol LDL (31).

NOMENCLATURA Y COMPOSICION DE LAS LIPOPROTEINAS.

Las lipoproteínas plasmáticas se clasifican según la metodología para separarlas que se basan en las técnicas de ultracentrifugación preparatoria en gradientes de densidad de cloruro de sodio o de cesio y en la técnica de electroforesis en geles de agarosa por lo general (32). La nomenclatura refleja el procedimiento empleado para aislarlas.

El uso de la electroforesis para la separación analítica y caracterización de las lipoproteínas del suero está bien establecido y se han usado varios soportes para éste fin, aunque el mayormente empleado es el gel de agarosa (30), en el cual se lleva a cabo una evaluación cuantitativa de las lipoproteínas plasmáticas.

A través del uso de la ultracentrifugación para separar las lipoproteínas se ha logrado obtener cuatro clases diferentes de éstas, que son: Quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad o VLDL, lipoproteínas de baja densidad o LDL y lipoproteínas de alta densidad o HDL (esquema 1).

QUILOMICRONES: Son las lipoproteínas de mayor tamaño entre los 750 a 12000 Å, de diámetro y cuya densidad es de 0.94 g/ml, siendo su función principal el transporte de triglicéridos provenientes de la dieta hacia otras células del organismo. La composición de los quilomicrones obtenidos del plasma es: 86% triglicéridos, 3% ésteres de colesterol, 2% colesterol libre, 7% fosfolípidos, 2% proteínas. Los fosfolípidos más abundantes son la fosfatidilcolina y la esfingomielina, en cuanto a las proteínas contenidas aproximadamente el 12% es Apo A (AI, AII y AIV), el 22% Apo B-48 y el 66% Apo C (28, 33, 34, 35).

LIPOPROTEINAS DE MUY BAJA DENSIDAD (VLDL): Estas lipoproteínas tienen un tamaño entre 280 a 750 Å, su densidad es de 0.93 a 1.006 g/ml y la función que realizan es la de transportar los triglicéridos sintetizados en el hígado así como a otros lípidos a la periferia. Las VLDL contiene 55% de triglicéridos, 12% de ésteres de colesterol, 7% de colesterol libre, 18% de fosfolípidos y 8% de proteínas. Al igual que en los quilomicrones, los fosfolípidos más abundantes son la fosfatidilcolina y la esfingomiélin. En cuanto a las proteínas, contienen 30% a 35% de Apo B-100 y 50% de Apo C (28, 33, 34, 35).

LIPOPROTEINAS DE BAJA DENSIDAD (LDL): Estas son las lipoproteínas de talla pequeña (215-220) Å. Para los humanos la LDL es la lipoproteína más abundante constituyendo del 40% al 50% de la masa total de lipoproteínas circulantes en el plasma humano. (33). Esta clase de lipoproteína con una densidad de 1.006-1.063 g/ml, es rica en colesterol y en sus ésteres y ésta constituye su principal transportador en el plasma siendo la lipoproteína que más se relaciona con la etiología de la aterosclerosis (26). La LDL está constituida por 8% de colesterol libre, 42% de ésteres de colesterol, 20% de fosfolípidos, 9.3% de triglicéridos y 20% de proteínas que en este caso se trata de Apo B-100 en su mayor parte (26).

Se ha observado que la LDL o al menos sus componentes protéicos, son derivados del catabolismo de las VLDL en el hígado (26).

Cabe destacar que en la mayoría de los demás mamíferos la más abundante es la HDL (36).

El colesterol transportado proviene de tres fuentes: colesterol absorbido por la dieta; por la vía del catabolismo de las VLDL y los quilomicrones en el hígado; colesterol sintetizado de forma endógena y colesterol no esterificado almacenado en los tejidos periféricos (28, 33, 34, 35).

LIPOPROTEINAS DE ALTA DENSIDAD (HDL): Comprende a la fracción por ultracentrifugación de una densidad de 1.063-1.210 g/ml. Las lipoproteínas de alta densidad son las más pequeñas pues miden de 65-95 Å de diámetro. La HDL constituye el principal sitio en el que ejerce su acción la enzima clave en el transporte del colesterol que es la lecitina colesterol-acil transferasa (LCAT) que transfiere los ácidos grasos de la lecitina al colesterol. Su función principal es el transportar el colesterol en exceso de las células hacia el hígado (transporte en reversa). Esta lipoproteína contiene un 8.1% de triglicéridos, 21.9% de fosfolípidos, 20% de colesterol y sus ésteres y un 50% de proteínas entre las

cuales están presentes la Apo AI, AII, CI y E, pero destacando por su abundancia la Apo AI (28, 33, 34, 35).

Como puede apreciarse el diámetro de las partículas de las lipoproteínas decrece conforme su densidad aumenta y paralelamente al incremento de la densidad es el aumento de contenido de proteínas (27) (esquema 1).

IMPORTANCIA CLINICA DE LAS LIPOPROTEINAS.

Existen pruebas suficientes para sostener que las lipoproteínas aterógenas son la VLDL y la LDL, principalmente la LDL ha sido sugerida como la fuente de lípidos acumulados intracelularmente (17, 35), mientras que los niveles de HDL se correlaciona inversamente con la patología esclerótica, tanto que se habla de un efecto protector (35). Curiosamente se ha observado que las HDL aumentan durante el embarazo y en la ingestión moderada de alcohol (26). Por esto mismo es importante conocer el metabolismo de las lipoproteínas, ya que un cambio en su estructura, función o metabolismo, causado por modificaciones químicas como la glicación no enzimática, traerá como consecuencia un desequilibrio general en el organismo con posibilidad de ser causa de otros trastornos fisiológicos.

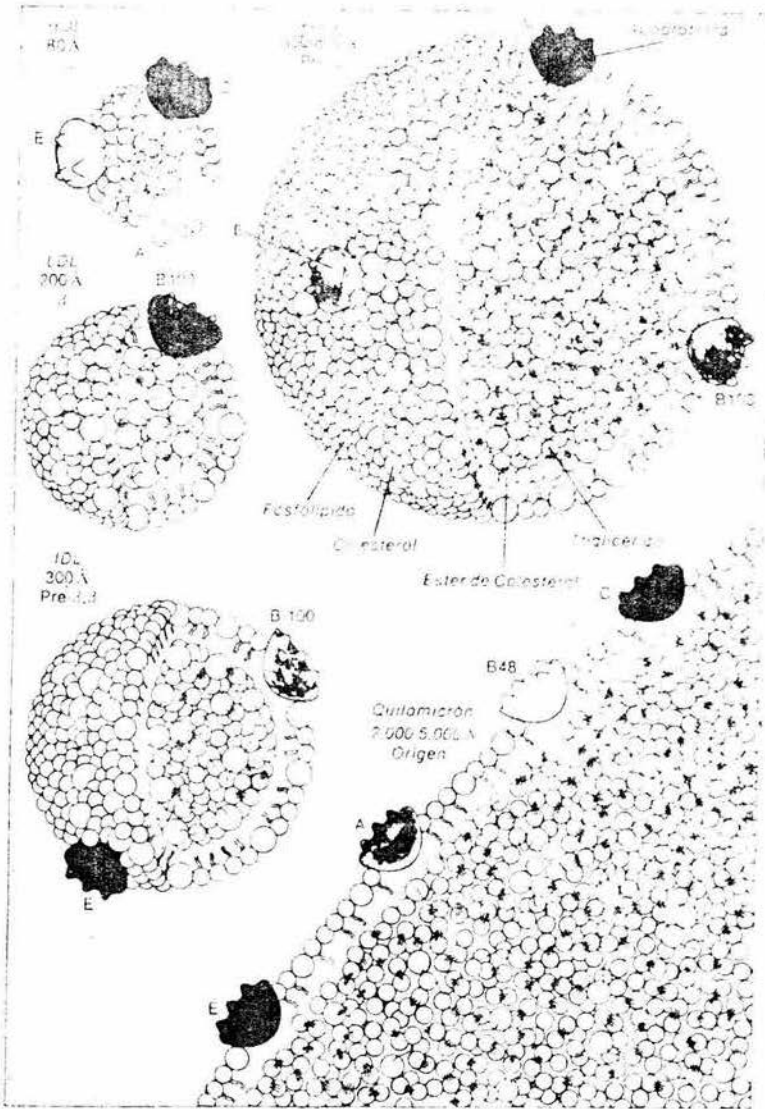
METABOLISMO DE LAS LIPOPROTEINAS.

La lipasa de las lipoproteínas (LL) presente en las paredes vasculares es insulino dependiente y su actividad se puede encontrar seriamente afectada (más de un 50 %) en el paciente con DM insulino dependiente (DMID) descompensada e inclusive en el paciente con DM no insulino dependiente (DMNID) que mantiene hiperglicemia basal sostenida (>145 mg/dl) por una deficiencia moderada o relativa de insulina favoreciendo la aterogénesis (47).

El defecto hereditario de los receptores de la Apo B-100 causa la hipercolesterolemia familiar (HF), descrita por Goldstein y Brown en 1985 (47). El número de estos receptores también disminuye en personas con dietas ricas en colesterol y grasas saturadas: en este caso existe un fenómeno de "regulación a la baja" sobre la síntesis de los receptores. Al dificultar la captación de las IDL (lipoproteína de densidad intermedia), se sintetizan más moléculas de LDL, que son las partículas más aterógenas (46).

Cuando las LDL se encuentran en concentraciones normales, su principal destino es ser captadas por los receptores específicos de alta afinidad para la Apo B-100. Estos receptores se encuentran en las membranas de las células del hígado y diversos tejidos periféricos y en ciertas invaginaciones de la membrana celular.

LIPIDOPROTEÍNAS Y APOPROTEÍNAS



ESQUEMA 1: Representación esquemática de la estructura de las hipoproteínas.

Las vesículas endocíticas, que internalizan a la LDL y la proteína receptora, fusionan su membrana con la de los lisosomas cuyo contenido de enzimas hidrolíticas incluye una proteasa que transforma la Apo B-100 en aminoácidos libres y una esterasa que transforma el colesterol esterificado en colesterol libre que puede abandonar el lisosoma. En lo que se refiere al receptor de la Apo B, éste puede ser reciclado a las invaginaciones de la membrana y captar una nueva molécula de Apo B-100 (29, 45, 46).

Cuando se excede la capacidad de depuración de los receptores de la Apo B por aumento de la concentración plasmática de las LDL, por modificaciones químicas postsintéticas de las LDL (oxidación, acetilación o glicación no enzimática) o por defectos del receptor (17, 18), las LDL son captadas por otro tipo de receptores que reconocen a las LDL que han sufrido modificaciones en su estructura química. Estos receptores se localizan en forma preferente en los macrófagos del sistema retículo endotelial diseminados en todo el organismo y que se originan de los monocitos circulantes que pasan a los tejidos. Los depósitos tienen especial relevancia clínica cuando se ubican en la íntima arterial (ateromas) o en tendones (xantomas).

Después de la unión de las LDL modificadas químicamente a éstos receptores atípicos, las lipoproteínas son interiorizadas y esto desencadena acontecimientos

similares a los que ocurren en el receptor de las LDL nativas a excepción de que en éste caso no ocurre la retroalimentación negativa sobre la síntesis del receptor permitiendo la acumulación indefinida de colesterol y la transformación de los macrófagos en células espumosas (foam cells), que son un elemento histológico característico de las placas ateromatosas y xantomas.

La concentración plasmática de la LDL se incrementa con la edad y se piensa que esto ocurre porque decrece la expresión de receptores para la LDL y por lo tanto se reduce la capacidad para su remoción (48).

Las HDL reciben de un modo continuo el colesterol libre que está en las membranas de todas las células del organismo. Este pasa a la superficie externa de la lipoproteína y después de que actúa la LCAT, pasa como colesterol esterificado al núcleo lipoprotéico. En el plasma hay una proteína transportadora que lleva a cabo el transporte de los ésteres de colesterol desde el núcleo de las HDL al núcleo de las VLDL, lo que permite dirigir el colesterol hacia el hígado sin necesidad de la captación directa de las HDL en éste órgano (29, 45, 46).

Varios estudios han confirmado la existencia de una relación inversa entre la concentración del colesterol de las HDL y el riesgo aterógeno (49).

GENERALIDADES DE LA GLICACION DE LAS PROTEINAS DEL SUERO.

Como se ha mencionado, las proteínas del suero experimentan una modificación en su estructura y función debido a la adición de glucosa a través de una reacción no enzimática. Esto ocurre de forma natural; sin embargo está incrementada en personas que sufren un desbalance del metabolismo de los carbohidratos, un estado de hiperglicemia. Por esto, debe mencionarse la forma en que se glican las proteínas del suero de forma individual.

HEMOGLOBINA: Aunque la hemoglobina no es una proteína libre en el suero sino que está en el eritrocito, experimenta una glicación no enzimática al igual que las proteínas de éste. Cerca del 5 % de hemoglobina en una población de células rojas normales está covalentemente unida a la glucosa dando por resultado la formación de un componente menor distinguible cromatográficamente designado por Allen et al, 1958 como HbA1c (37) y en el paciente diabético ésta está incrementada de dos a tres veces (38). Su formación es un proceso lento que se realiza en forma continua a lo largo de la vida del eritrocito. Cuando la glicemia se eleva por encima del rango normal, la HbA1c aumenta y en ello reside su importancia como indicador del grado de control metabólico retrospectivo del diabético, recordando que informa

de lo acontecido con ella en el período de 6 a 8 semanas previas a su determinación. (39, 40). Al glicarse la molécula de hemoglobina modifica sus propiedades en general, y en particular aumenta su afinidad por el O₂, ya que el 2-3 difosfoglicerato que disminuye ésta afinidad no puede unirse a la valina terminal de la cadena b. Esto hará que la hemoglobina ceda el O₂ a los tejidos periféricos con menos facilidad produciendo hipoxia regional principalmente en los extremos venosos de los capilares periféricos (39).

Los niveles elevados de HbA1c se han correlacionado con niveles elevados de colesterol por lo que son factores de riesgo aterogénico (41).

ALBUMINA: La glicación de la albúmina ocurre predominantemente en un grupo amino lisil específico (42), con esto se inducen cambios en su estructura terciaria y propiedades: disminuye en un 50% su capacidad de ligar hipoglucemiantes orales y aumenta la micropinocitosis por parte de las células endoteliales (39, 43, 44). Esta proteína también es un valioso indicador del grado de control metabólico del diabético, ya que aumenta su glicación al incrementarse la glicemia. Dada la vida media de ésta proteína su valor se relaciona con los promedios glicémicos correspondientes al período de 1 a 3 semanas previas a su determinación (39). *In vitro* se ha observado que la albúmina glicada aumenta su

permeabilidad en un sistema de filtración de la membrana basal glomerular de rata contribuyendo esto a una albuminuria y/o daño renal (44).

LIPOPROTEINAS: Como se ha mencionado anteriormente, la GNE altera la estructura y función de las lipoproteínas evitando que los receptores específicos en la membrana celular las reconozcan alterando el metabolismo de éstas, haciendo que participen en procesos patológicos de aterogénesis.

ANTECEDENTES

GLICACION NO ENZIMATICA DE PROTEINAS

Los últimos años han sido de gran actividad en la investigación de las áreas clínica, morfológica y bioquímica llegándose a establecer que el estado de hiperglicemia es una consecuencia de la insuficiente acción de la insulina, siendo típico en el diabético. Han sido propuestas varias actividades citotóxicas de la glucosa en las que se incluye una lenta glicación no enzimática de las proteínas la cual trae alteraciones conformacionales y funcionales de las mismas (17, 39, 50, 51, 52, 53).

Se ha establecido que la extraordinaria diversidad en las proteínas se muestra remarcada por las modificaciones postsintéticas. Una gran variedad de proteínas debe muchas de sus propiedades funcionales a la unión covalente de carbohidratos a ciertos residuos aminoacídicos en la cadena polipeptídica de forma enzimática (38). Sin embargo, se ha observado que la glucosa se une no enzimáticamente de forma covalente al grupo ϵ -amino terminal de la lisina, el grupo guanidino de la arginina en la cadena polipeptídica (50, 54, 55). Esta reacción fué primeramente observada en el

campo de la tecnología en alimentos donde L. Camille Maillard demostró que el cambio de color experimentado por ciertos alimentos al envejecer se debía a la reacción entre azúcares reductores y proteínas (38, 39, 50). Otros investigadores han postulado una reacción entre éstos azúcares reductores con los aminoácidos libres en las proteínas (56). Se ha encontrado que ésta reacción no enzimática ocurre en proteínas celulares y del plasma *in vivo* (57, 58), en un rango lineal relacionado a la concentración media de la glucosa en sangre y a la vida media de las proteínas circulantes (55). Los pacientes diabéticos presentan de 2 a 6 veces incrementado el riesgo de desarrollar una enfermedad coronaria, en comparación a los no diabéticos (34), ésto se debe a que el transporte de glucosa en los tejidos que pueden desarrollar las complicaciones diabéticas no es modulado por la insulina y los niveles elevados de glucosa en suero afecta directamente su metabolismo intracelular, comprometiendo de alguna manera otros aspectos del metabolismo de la célula (39).

Una explicación al desarrollo de las complicaciones en los diabéticos es por el papel potencial de la hiperglicemia, falta de insulina y el desbalance de otras hormonas (58). Como consecuencia de la pérdida de la homeostasis de la glucemia, destacan los mecanismos relacionados con la excesiva glicación no enzimática de proteínas (46).

Desde el punto de vista químico, la glicación no enzimática es una reacción de condensación entre un glúcido reductor (glucosa) y a) el grupo ϵ -amino de los residuos de lisina, b) el grupo ϵ -amino del N-terminal de la cadena polipeptídica y c) los grupo amino de los aminoácidos que no forman parte de algún péptido (39, 54). La reacción entre el grupo aldehído del monosacárido y el grupo amino de la proteína, produce una aldimina inestable (base de Schiff) (39, 50, 51, 54, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64). La velocidad a la cual se forma (K_1) es igual a la de su disociación ($-K_1$ p K^{-1}), por lo que su concentración aumenta en función de la concentración de la glucosa, alcanzándose el equilibrio de la reacción en pocas horas. (60).

La base de Schiff así formada experimenta un reordenamiento intramolecular lento que la transforma en un compuesto más estable (cetoamina, compuesto de Amadori o Fructosamina) (3, 39, 60) (esquema 2). El equilibrio de los productos de Amadori es alcanzado en período de aproximadamente 28 días. Con una proteína dada los grupos amino más susceptibles para formar productos de Amadori parecen ser aquellos que están próximos a los grupos que pueden participar en una catálisis local ácido-base del rearreglo de Amadori (60). Esta transformación es una reacción reversible que se establece en aproximadamente 4 semanas, desplazado hacia la formación del compuesto de Amadori. Por lo tanto, la determinación de éste es un

indicador integrativo de los valores medios de glicemia ocurridos en periodos previos los cuales serán más o menos retrospectivos de acuerdo a la vida media de la proteína, 6 a 8 semanas para la hemoglobina y 2 a 3 semanas para las fructosaminas del suero.

La concentración de las aldminas y cetoaminas varía en función de los cambios ocurridos en los niveles de glicemia, ascendiendo cuando hay hiperglicemia y descendiendo cuando disminuye. El aumento en la concentración de glucosa incrementa proporcionalmente la velocidad de acumulación del compuesto de Amadori por un efecto de la ley de acción de masas, pudiendo seguir tres caminos:

- A) Transformarse nuevamente en base de Schiff.
- B) Transformarse en productos avanzados de glicación tardía (PGA).
- C) Degradarse oxidativamente produciendo ácido eritrónico y carboximetilisina (39).

Los monosacáridos se autooxidan mediante un proceso catalizado por metales de transición el cual puede ser inhibido por agentes quelantes y acelerado por aniones fosfato, probablemente por una catálisis ácido-base de la deshidratación-enolización del aldehído (61).

La acumulación de cetoaldehído se aumenta al incrementarse la glucosa (61, 62). Wolf y Dean (61), han sugerido que paralelamente a la formación de proteínas glicadas y PGA vía la formación de aldimina y posterior cetoamina, la glucosa es capaz de formar cetoamina por un proceso de oxidación. La glucosa al igual que otros α -hidroxialdehídos es capaz de generar H_2O_2 o radicales hidroxilo y cetoaldehído mediante un proceso de oxidación catalizado por metales de transición (Glucooxidación). Los cetoaldehídos resultantes de ésta oxidación se unen en forma covalente a las proteínas, contribuyendo de manera sustancial a su glicación, por lo menos *in vivo* (61).

La glucooxidación es un proceso que puede inhibirse mediante el empleo de diversos agentes entre ellos los quelantes (EDTA, dietilentriaminopentano-ácido acético o DETAPAC) y antioxidantes como galato de propilo, butilato de hidroxianisol, butilato de hidroxitolueno usados en la industria alimentaria y mientras que en la naturaleza existen los tocoferoles (Vit. E) y el ácido ascórbico (Vit. C) (65). El α -tocoferol es el antioxidante más poderoso mientras que el γ , β y el α -tocoferol tienen una potencia menor como antioxidantes (66). La actividad metabólica de la vitamina E es inversa a su actividad antioxidante, siendo el α -tocoferol la forma más activa y el α -tocoferol la menos activa de la vitamina (66). Las fuentes más importantes de los tocoferoles son los diversos aceites

vegetales. Las vitaminas C y E impiden la formación de radicales libres (46, 56), y por la adición de agentes reductores (67).

Otras sustancias también ejercen un efecto que disminuye la glicación no enzimática de proteínas como lo son la aspirina (71), la lisina (72) y la aminoguanidina (73). Sin embargo el uso de la aspirina ha sido ampliamente cuestionado (74) y la administración de lisina trae efectos tóxicos de hiperlisinemia. La aminoguanidina sólo impide la formación de los productos avanzados de la glicación. Así que la vitamina E que también produce una ligera mejoría en el control metabólico del paciente diabético tipo II (75), muestra ser la alternativa idónea para evitar la glicación de las proteínas.

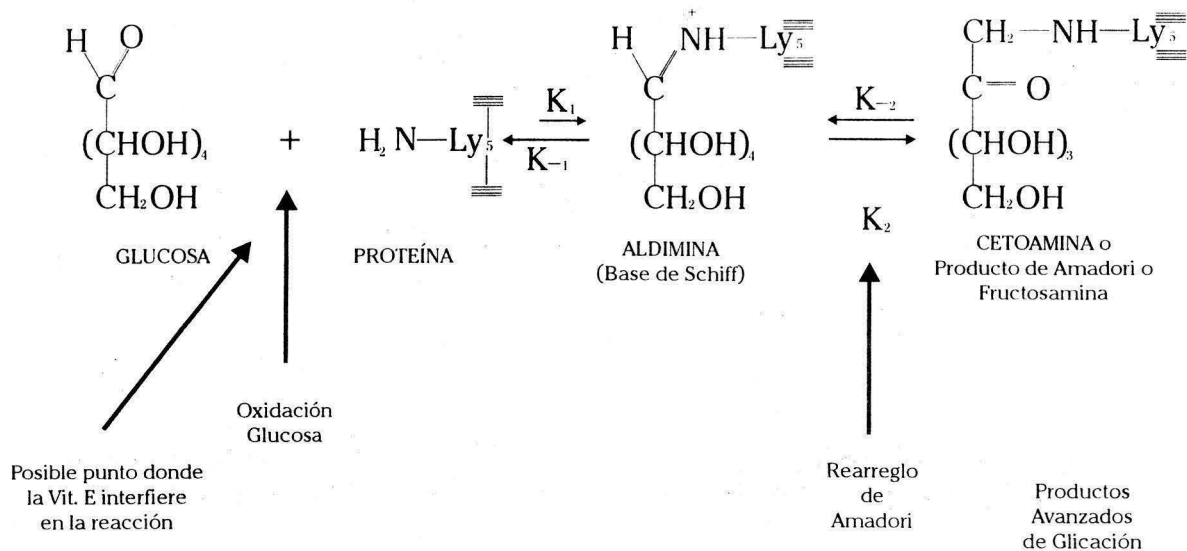
Se ha reportado el efecto inhibitorio de la vitamina E sobre la glicación de proteínas *in vitro* (68) e *in vivo* (69) interfiriendo en una etapa temprana de la reacción de Maillard. El mecanismo de acción de la vitamina E permanece incierto, aunque la autooxidación de monosacáridos parece contribuir a la modificación proteica por la glucosa (61). Por lo tanto, la inhibición de la autooxidación de la glucosa reduce la unión covalente de la glucosa a las proteínas (61). Un efecto similar se ha observado con la vitamina C (70).

La glicación no enzimática de las proteínas y lipoproteínas circulantes en el torrente sanguíneo es un proceso favorecido en buena parte por la glucooxidación, que al inhibirse podría ser un recurso terapéutico eficaz en la prevención de factores que condicionan la aparición de las complicaciones crónicas en la diabetes mellitus, como en la aterosclerosis, con ayuda de antioxidantes, como es el caso de la vitamina E en conjunto con un buen control de la glicemia.

OBJETIVOS

- 1.- Estimar el efecto de la vitamina E administrada oralmente (1200mg/día) en 3 dosis (una después de cada alimento) sobre las concentraciones de los siguientes componentes del suero de pacientes diabéticos descontrolados: Glucosa, fructosamina, hemoglobina glicada (HbA_{1c}), lípidos sanguíneos (triglicéridos, colesterol total, colesterol-LDL, colesterol-HDL), proteínas del suero (apoproteína A-1 (Apo A-1), apoproteína B-100 (Apo B-100), albúmina y proteínas totales).
- 2.- Estimar el efecto de la vitamina E administrada oralmente (1200mg/día) en 3 dosis (una después de cada alimento) sobre las proteínas glicadas presentes en el suero separadas electroforéticamente y teñidas con Nitroazul de tetrazolio (NBT).

ESQUEMA GENERAL DE LA GLICACIÓN NO ENZIMÁTICA



Esquema 2. Mecanismo de la reacción de Glicación no enzimática de las Proteínas

MATERIAL Y MÉTODO

El presente trabajo inició con una muestra de 60 pacientes con diabetes mellitus, de los cuales 25 eran insulino dependientes (DMID) y 35 eran no insulino dependientes (DMNID). La muestra incluía a 21 hombres y 39 mujeres, comprendidos en un intervalo de edad de 15 a 75 años.

Los criterios para la selección fueron:

- a) Ser pacientes de la consulta externa del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán.
- b) Ser pacientes con DMID o DMNID.
- c) No presentar enfermedades sistémicas.

Así como no estar bajo ningún medicamento que interfiriera con la determinación de las concentraciones de los componentes del suero contemplados para éste estudio, excepto la insulina o el hipoglucemiante, según sea el caso (89).

Los criterios de exclusión fueron:

- a) Estado de gravidez.
- b) Estado de cetoacidosis.
- c) No cumplimiento del 80 % de las visitas programadas.
- d) No apegarse al tratamiento del protocolo.

DISEÑO EXPERIMENTAL

El presente estudio fué de tipo doble ciego cruzado dividiéndose los pacientes en dos grupos (A y B) asignados al azar, y asistiendo al INNSZ con el fin de obtener las muestras de sangre y de orina de 24 horas.

Se realizaron dos muestreos previos al tratamiento con vitamina E con una semana de diferencia entre éstos, y de ambos se obtuvo la media con el propósito de tener las concentraciones basales de cada uno de los componentes bioquímicos a determinar.

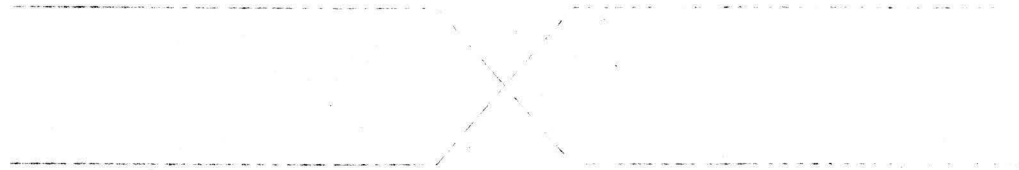
VITAMINA E

GRUPO A

Basal

-2 0 2 4 8 0' 2' 4' 8'

periodo
de
lavado



-2 0 2 4 8 0' 2' 4' 8'

Basal

SEMANAS

GRUPO B

PLACEBO

Esquema 3. DISEÑO DOBLE CIEGO CRUZADO

El estudio constó de dos etapas: la primera etapa comenzó inmediatamente después de haber obtenido los valores basales de cada uno de los componentes del suero, teniendo una duración de ocho semanas. Se llevaron a cabo muestreos a las dos, cuatro y ocho semanas de iniciada esta primera etapa. A continuación hubo un período de un mes que separó a las 2 etapas del estudio, denominándose "período de lavado". Posteriormente dió comienzo la segunda etapa con un muestreo (semana 0) realizándose también muestreos a las dos, cuatro y ocho semanas de iniciada ésta etapa final.

El grupo A comenzó en la primera etapa con el tratamiento de vitamina E (acetato de α -tocoferol) proporcionado por los laboratorios Searle de México, tomándose por vía oral una cápsula de 400 mg tres veces al día después de cada comida.

El otro grupo (B), inició la primera etapa con un placebo con presentación idéntica a la de las cápsulas de vitamina E, tomándose en iguales condiciones a las del grupo A. En el período de lavado, ambos grupos tomaron placebo.

Al comenzar la segunda etapa, los pacientes que tomaron placebo (grupo B) en la primera, pasaron al tratamiento con vitamina E, en las condiciones

mencionadas anteriormente, mientras que los pacientes del grupo A continuaron con la ingesta de placebo iniciada en el periodo de lavado, hasta concluir el estudio (esquema 3).

Los siguientes componentes del suero fueron determinados en muestras frescas en cada uno de los muestreos del estudio: Glucosa, fructosamina, hemoglobina glicada (HbA_{1c}), lípidos sanguíneos (triglicéridos, colesterol total, colesterol-LDL, colesterol-HDL), proteínas del suero (apolipoproteína A-1 (Apo A-1), apolipoproteína B-100 (Apo B-100), albúmina y proteínas totales). Además se determinó la glicación de las proteínas del suero por separación electroforética y teñidas específicamente para proteínas glicadas con nitroazul de tetrazolio (NBT).

La hemoglobina glicada se determinó únicamente en los muestreos basales y terminales de cada etapa.

COLECCION DE MUESTRAS DE SANGRE. Las muestras de sangre fueron obtenidas en la mañana después de un ayuno nocturno de por lo menos 12 horas, siendo 20 ml. el volúmen requerido.

Los pacientes, antes y durante la toma de muestra permanecieron sentados (76).

Antes de la formación del coágulo se tomaron 20µl de sangre para la determinación de la hemoglobina glicada.

Para la separación del suero se utilizó durante 15 minutos una centrifuga refrigerada Beckman a 4°C a 1600 g.

DETERMINACION DE GLUCOSA. Se llevó a cabo el método enzimático con glucosa oxidasa modificado por Trinder (78), ajustado para los sistemas Boehringer Mannheim/Hitachi 705. Para llevar a cabo esta determinación se utilizaron los reactivos de Boehringer Mannheim GmbH Diagnostica Glucosa GOD-PAP. En la calibración se empleó el autocalibrator for automated systems de BM GmbH Diagnostica que es un liofilizado basado en suero humano en el que la concentración de glucosa tiene un valor establecido y para el control de calidad se usaron los sueros control de BM GmbH Diagnostica Precinor-U y Precipath-U que son sueros de control liofilizados basados en suero humano en los que la concentración de glucosa se halla en los intervalos normal y patológico, respectivamente. El material de muestra fue suero fresco de cada paciente.

DETERMINACION DE FRUCTOSAMINA. Se empleó la técnica adaptada al equipo automatizado Hitachi systems 705, con base en el método cinético desarrollado por Johnson et al (77).

Esta prueba fué determinada por la reducción del azul de nitrotetrazolio (NBT) en medio alcalino.

Se empleó como estándar precimat-fructosamina y para el control de calidad en precisión y exactitud se utilizó precinorm y precipath fructosamina, en ellos, la concentración de fructosamina se halla en los intervalos normal y patológico respectivamente.

Todos los reactivos fueron de los laboratorios Boheringer Mannheim.

DETERMINACION DE HEMOGLOBINA GLICADA (HbA_{1c}). Se llevó a cabo por medio de la separación electroforética en gel de agarosa (Paragon HbA_{1c} electrophoresis Beckman) con un tampón ácido.

Una vez efectuada la separación electroforética, los geles fueron leídas por densitometría a 415nm. en un densitómetro Appraise densitometer Paragon System Beckman.

Para el control de calidad se aplicaron en cada gel, en las posiciones 1 y 10, un hemolizado de control normal y un hemolizado de control anormal, respectivamente.

DETERMINACION DE TRIGLICERIDOS. Esta prueba se realizó con la técnica adaptada para análisis automatizado con el método de hidrólisis enzimático de los triglicéridos y determinación enzimática subsiguiente del glicerol formado (reacción colorimétrica), utilizando el equipo automatizado Hitachi Systems 705, con reactivos de los laboratorios Boringer Mannheim.

Como estándar se empleó el Precimat glicerol con una concentración de glicerol conocida, mientras que para el control de calidad fueron utilizados Precinorm-U y Precilip-EL, todos ellos de los laboratorios arriba mencionados.

DETERMINACION DE COLESTEROL TOTAL. Se llevó a cabo mediante el método enzimático colorimétrico CHOD-PAP (82) en un sistema automatizado Hitachi systems 705.

Como estándar se usó Preciset-colesterol que son ésteres de colesterol con concentraciones establecidas y para el control de calidad en precisión y exactitud se emplearon el Precinorm-U y Precilip-EL, siendo éstos reactivos de los laboratorios Boheringer Mannheim.

DETERMINACION DE COLESTEROL-LDL. Dicha prueba se efectuó por el método de la precipitación con polivinilsulfato (PVS), el cuál provoca la precipitación de las LDL, empleándose reactivos de Boheringer Mannheim.

El valor de colesterol-LDL se calcula a partir de la diferencia entre los valores de colesterol en el suero y en el sobrenadante de la precipitación.

Para el control de calidad es el mismo que para la determinación de colesterol total.

DETERMINACION DE COLESTEROL-HDL. Se llevó a cabo por el método de precipitación de ácido fosfotúngstico. La adición de ácido fosfotúngstico e iones Mg. a la muestra provocan la precipitación de quilomicrones, VLDL y LDL. El sobrenadante contiene a las HDL cuya concentración de colesterol es medido enzimáticamente en un equipo automatizado Hitachi systems 705. Los sueros empleados para el control de calidad en precisión y exactitud fueron Precinorm-U y Precilip-EL, los cuales son de los laboratorios Boheringer Mannheim.

DETERMINACION DE APOLIPROTEINA A-I Y APOLIPROTEINA B-100. Ambas pruebas se realizaron por nefelometría cinética, que mide la velocidad de aumento en la luz difundida por las partículas en suspensión que resultan de los complejos formados durante una reacción antígeno-anticuerpo.

El equipo automatizado fué un nefelómetro Array Protein System (Beckman Instruments), siendo los reactivos utilizados: reactivo de apoliproteína A-I, que son anticuerpos de mamíferos policlonales específicos contra la apo A-I humana y reactivo de apo B-100, que son anticuerpos de mamíferos para la apo B-100 humana, calibrador de apoliproteínas y para el control de calidad apo control, siendo todos estos reactivos Beckman.

DETERMINACION DE ALBUMINA. Se efectuó mediante el método de unión por tintes utilizando el verde de bromocresol con reactivo para albúmina Liquid-Stat (Beckman) y un fotómetro Clinical System 100 (Beckman).

Los controles empleados para exactitud y precisión fueron Decision Multilevel (Beckman), que son sueros con valores ubicados en los valores bajo, medio y alto.

Para la calibración se utilizó una solución con una concentración conocida de albúmina.

DETERMINACION DE PROTEINA TOTAL. Esta prueba se llevó a cabo por el método de biuret, con reactivo para Proteínas Totales Liquid-Stat (Beckman) utilizando un fotómetro Clinical System 100 (Beckman).

Los controles empleados para exactitud y precisión fueron Decision Multilevel (Beckman), que son sueros con valores ubicados en los valores bajo, medio y alto.

DETERMINACION DE LA GLICACION DE LAS PROTEINAS DE SUERO POR ELECTROFORESIS TEÑIDAS CON AZUL DE NITROTETRAZOLIO (NBT). El NBT es reducido por la fructosamina contenida en el suero y produce una coloración que dependerá de la concentración de fructosamina. Al efectuar una electroforesis de las proteínas de suero y separarlas en cinco zonas diferenciables que se visualizan con un teñidor específico de proteínas cuyo modelo puede ser interpretado visualmente o cuantificado en un densitómetro. Al aplicar sobre este modelo un agente que produzca coloración que específicamente visualice a las proteínas del suero que han sido glicadas puede entonces ser evaluado también densitométricamente. Determinación del grado de glicación de las lipoproteínas en suero por éste conducto ha sido realizado por Romay et al (79) y por Kobayashi et al (80, 81). Para éste propósito se empleó el estuche de electroforesis para seroproteínas Paragon electrophoresis system Beckman. Se aplicó 0.5 µl de suero de cada muestra en cada posición del gel con una jeringa Hamilton de 10 µl de capacidad. En la posición 1 se aplicó un suero control que fué precinorm o precipath fructosamina de forma alternada. Después de la última aplicación se esperaron 2 minutos para permitir la difusión de la muestra en el gel (Agarosa al 1 %, 1.2 % de tampón barbital, 0.1 % de azida sódica). Se colocó el gel en la cámara de electroforesis, a la cual previamente se le adicionó 45 ml por compartimiento de tampón barbital B-2 (5, 5-ácido dietilbarbitúrico 10 mmol/l, sal

sódica del 5, 5-ácido dietilbarbitúrico 50 mmol/l, pH 8.6). Se fijó la tensión a 100 voltios y se mantuvo la electroforesis durante 25 minutos. Una vez concluida la electroforesis el gel se sumergió en agua desionizada para remover los residuos de tampón. Se secó el exceso de agua de la parte posterior del gel, fué introducido en una cámara de vidrio (10 x 8 cm) en donde el gel se cubrió con NBT 2.5 mmol/l en tampón de carbonato de sodio 0.1 mol/l pH 10.3. Después la cámara se cerró con una cubierta de vidrio y se colocó en una cámara de incubación a una temperatura de 37°C durante 16 horas. Transcurrido éste tiempo el gel se sacó de la cámara de vidrio y se lavó con agua desionizada, las bandas azules teñidas por el NBT fueron leídas densitométricamente a 520 nm en porcentaje (%). La concentración en mmol/l para cada fracción fue calculada al multiplicar el porcentaje por la concentración de fructosamina total de cada muestra y dividido entre el 100 % del total del perfil de lectura.

TRATAMIENTO ESTADISTICO: Con los datos obtenidos durante el estudio se realizó un análisis estadístico, el cual consistió en una prueba de t de "student", para muestras pareadas, con el propósito de observar si se presentó un cambio significativo entre los períodos finales de cada tratamiento con respecto al período basal. Siendo esto un análisis del comportamiento temporal de los datos registrados. Así mismo, se realizó un análisis estadístico que comparó el tratamiento

con vitamina E contra un placebo. Para ello se empleó una prueba de t de "student" y un análisis de Varianza (ANOVA) por el método de cuadrado latino (93, 94, 95).

RESULTADOS

El presente estudio inició con una muestra de 60 pacientes diabéticos (25 con DMID y 35 con DMNID) a los que no se les intentó mejorar los niveles de glucosa en suero, con el objeto de valorar el efecto de la vitamina E sobre los niveles de glicación no enzimática de las proteínas circulantes. Al término del estudio, la muestra de pacientes se redujo a 51, ya que 9 pacientes entraron en alguno de los criterios de exclusión establecidos previamente; 3 pacientes presentaron estado de cetoacidosis, 2 personas no se apegaron al tratamiento, 1 por embarazo y 3 pacientes no cumplieron con el 80% de las visitas programadas. Por lo tanto, el grupo A quedó integrado por 27 pacientes mientras que el grupo B quedó constituido por 24.

DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS DE LOS COMPONENTES DEL SUERO DETERMINADOS.

En cuanto a las distribuciones de frecuencias que presentaron los componentes del suero que se midieron, se observó que a excepción de los valores correspondientes a glucosa y triglicéridos, todos los demás valores de los diferentes componentes del suero medidos, presentaron una distribución normal, por lo que se

aplicó una t de "student" para muestras pareadas (*a los componentes que presentaron una distribución de frecuencias gaussianas*), esto con el fin de observar si se presentó variación en las concentraciones de los componentes del suero en función del tiempo con respecto a los valores basales.

Así mismo, se les aplicó una ANOVA para establecer si éstas disminuciones eran en función al tratamiento.

A los componentes del suero que no presentaron una distribución de frecuencias de tipo normal, se les aplicó únicamente una prueba de ANOVA.

Las características registradas tanto para el grupo A como para el grupo B en cuanto a edad, talla, peso, índice de masa corporal (IMC), sexo, tiempo de evolución de la diabetes mellitus, así como presión arterial y el tipo de medicamentos con el que regulan su glicemia (tratamiento) se muestran en la tabla I.

En lo que al tratamiento se refiere, el 50.98% de ellos recibieron insulina subcutánea, el 27.45% recibieron una combinación de hipoglucemiantes orales e insulina, el 9.8% hipoglucemiantes orales y el 11.76% recibieron sulfonilureas + biguanidas.

El grupo A presentó un 44.4% de pacientes con DMID y un 55.5% de pacientes con DMNID, mientras que en el grupo B el porcentaje de pacientes con DMID fué de 41.66% y un 58.33% de DMNID.

Al efectuar una comparación estadística entre los grupos A y B en lo referente a las características arriba mencionadas, no se encontraron diferencias significativas.

GLUCOSA

COMPARACION CON RESPECTO AL TIEMPO. Las glicemias basales (230 ± 9.6 mg/dl) con un IC al 95% de 212.16 a 249.64 mg/dl, en el análisis con respecto al período final de vitamina E no mostraron diferencias significativas para ninguno de los casos (grupo A, grupo B, y datos agrupados) (tablas 2, 3, y 4).

COMPARACION ENTRE TRATAMIENTOS. Por otro lado, al hacer el análisis entre tratamientos, tampoco existieron diferencias significativas entre la vitamina E y el control (placebo) (gráfica 1).

FRUCTOSAMINA

COMPARACION CON RESPECTO AL TIEMPO. Al término de dos meses de tratamiento con vitamina E, el valor de fructosamina correspondiente al grupo A, fué de $462.68 \pm 20 \mu\text{mol/l}$ (IC al 95% de 442.05 a $483.31 \mu\text{mol/l}$), el cual no presentó diferencia significativa con respecto al valor basal que fué de $486.88 \pm 19.9 \mu\text{mol/l}$ (IC al 95% de 466.98 a $506.78 \mu\text{mol/l}$) (tabla 2).

Con respecto al grupo B, se registró un valor de $467.89 \pm 27.01 \mu\text{mol/l}$ (IC al 95% de 440.88 a $494.9 \mu\text{mol/l}$) valor que correspondió al final de la administración de la vitamina E, y el cual no presentó diferencia significativa al compararse con el valor de la concentración de fructosamina en el periodo basal que fué de $489.26 \pm 27.05 \mu\text{mol/l}$ (IC al 95% de 462.21 a $516.31 \mu\text{mol/l}$) (tabla 3).

Al trabajar los datos en forma agrupada y al efectuar el mismo análisis estadístico, se encontró que hay diferencias significativas entre el valor correspondiente al final del período de administración de vitamina E ($465.13 \pm 16.59 \mu\text{mol/l}$) con respecto a su valor basal ($488 \pm 16.35 \mu\text{mol/l}$), con una $p < 0.05$, lo cual indica una ligera disminución en la concentración de este componente del suero (tabla 4).

COMPARACION ENTRE TRATAMIENTOS. Al emplear como análisis estadístico la t de "student" para muestras independientes en los datos agrupados y correspondientes al final de la administración de vitamina E contra los correspondientes al final del periodo de la toma de placebo, no se encontraron diferencias significativas entre estos dos tratamientos.

Así mismo, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) a través del método de cuadrados latinos, donde se llevó a cabo una comparación entre tratamientos (vitamina E contra placebo) usando los datos agrupados y correspondientes al último período de toma de vitamina E contra el último de placebo, y dicho análisis dio como resultado que no existe diferencias significativas entre ambos tratamientos (ver tabla 1 y gráfica 2).

HEMOGLOBINA GLICADA (HbA_{1c})

COMPARACION CON RESPECTO AL TIEMPO. Se llevó a cabo una comparación entre los periodos finales de cada tratamiento contra los valores basales y no se encontró diferencia significativa para ninguno de los casos (grupo A, grupo B, y datos agrupados), (ver tablas 2, 3 y 4).

COMPARACION ENTRE TRATAMIENTOS. Posteriormente para realizar esta comparación (vitamina E contra placebo) se empleó una t de "student" para muestras independientes, trabajando con los datos de forma agrupada, no encontrándose tampoco diferencias significativas.

Una ANOVA confirmó lo obtenido con la t de "student" (ver gráfica 3).

COLESTEROL TOTAL

COMPARACION CON RESPECTO AL TIEMPO. El análisis temporal con la t de "student" para muestras pareadas, reveló que sólo hubo diferencias significativas para los datos agrupados entre el valor correspondiente al final del tratamiento con vitamina E, el cual fué de 197.18+/-6.5mg/dl (IC al 95% 190.68 a 203.68 mg/dl) con respecto al valor basal, que fué de 207.74+/-5.19mg/dl (IC al 95% de 202.55 a 212.93mg/dl) con una $p < 0.05$ (tablas 2, 3 y 4).

COMPARACION ENTRE TRATAMIENTOS. Se llevó a cabo una t de "student" entre los valores finales del tratamiento con vitamina E y los correspondientes al final del placebo, encontrándose diferencias significativas entre

ambos, con una $p < 0.05$. Este resultado se confirmó con un análisis de varianza en la que se obtuvo una p similar (gráfica 4).

COLESTEROL-LDL.

Comparación con respecto al tiempo. En el caso del grupo A, no se encontraron diferencias significativas entre los valores del período final de vitamina E (125.37 \pm 8.63 mg/dl) (IC al 95% 116.75 a 133.99 mg/dl) con respecto a su valor basal, el cual fué de 139.47 \pm 6.09 mg/dl (IC al 95% 133.38 a 145.56 mg/dl) (tabla 2).

Para el grupo B se observó que las concentraciones de colesterol-LDL al final de la administración de vitamina E fueron de 136.7 \pm 8.08 mg/dl (IC al 95% 128.62 a 144.78 mg/dl) que resultaron ser significativamente mayores que las concentraciones del período basal, el cual fué de 124.5 / 5.63 (IC al 95% 118.87 a 130.13 mg/dl) situación contraria a lo esperado (ver tabla 3).

Al efectuar el análisis temporal con los datos agrupados, no se observaron diferencias significativas (tabla 4).

COMPARACION ENTRE TRATAMIENTOS. Se presentó diferencia significativa entre el tratamiento con vitamina E y el placebo, con una $p < 0.05$, resultado que se obtuvo tanto con la t de "student" como con la ANOVA (ver gráfica 5).

COLESTEROL-HDL.

COMPARACION CON RESPECTO AL TIEMPO. Al comparar el valor basal contra el valor final del periodo de administración de vitamina E, para el grupo A no se encontraron diferencias significativas (tabla 2).

En el caso del grupo B, al realizar la prueba estadística entre el final de vitamina E (41.78 \pm 2.85 mg/dl) con un Índice de Confianza (IC) al 95% de 38.93 a 44.63 mg/dl, y el basal que fué de 49.8 \pm 3.7 mg/dl (IC al 95% de 46.1 a 53.5 mg/dl), si se presentaron diferencias significativas (ver tabla 3).

Así mismo, en los datos agrupados, también se presentó una disminución significativa en las concentraciones del colesterol HDL al final del periodo de vitamina E (tabla 4).

COMPARACION ENTRE TRATAMIENTOS. No se encontró diferencias significativas entre el tratamiento con vitamina E y el placebo resultado obtenido tanto con la t de "student" como con el análisis de varianza (ANOVA) (ver gráfica 6).

APOLIPROTEINA A-I (APO A).

COMPARACION CON RESPECTO AL TIEMPO. Para el grupo A no se presentaron diferencias significativas entre el valor basal y el obtenido al final del tratamiento con la vitamina E (tabla 2).

Sin embargo, en el caso del grupo B si existió disminución estadísticamente significativa entre el valor basal y el final de vitamina E, que fueron de 162.69 ± 8.87 mg/dl (IC al 95% de 153.82 a 271.56mg/dl) y 150.5 ± 6.25 (IC al 95% de 144.25 a 156.75mg/dl) respectivamente, con una $p < 0.05$ (ver tabla 3).

Referente a los datos agrupados, no hubo diferencias significativas (tabla 4).

COMPARACION ENTRE TRATAMIENTOS. Al llevar a cabo los estadísticos (t de "student" y ANOVA), no se hallaron diferencias significativas entre la vitamina E y el placebo (ver gráfica 7).

APOLIPROTEINA B-100 (APO B.)

COMPARACION CON RESPECTO AL TIEMPO. No se registraron diferencias significativas entre los valores basales y los finales de vitamina E para ninguno de los casos, (grupo A, grupo B, y datos agrupados) (tablas 2, 3 y 4).

COMPARACION ENTRE TRATAMIENTOS. Al efectuar la t de "student" entre la vitamina E y el placebo, se encontraron diferencias significativas con una $p < 0.05$, ya que las concentraciones con el placebo fueron menores. Este resultado fué confirmado al emplear el análisis de varianza (ANOVA) (ver gráfica 8).

GLICACION NO ENZIMATICA DE LAS PROTEINAS SEPARADAS ELECTROFORETICAMENTE DE MUESTRAS DE SUERO.

FRACCION ALFA-I

ANALISIS TEMPORAL. Al final del tratamiento con vitamina E, el grupo A no presentó diferencias significativas con respecto al basal, cuyos valores fueron $22.46 \pm 1.96 \mu\text{mol/l}$ (IC al 95% 20.5 a $24.42 \mu\text{mol/l}$) y $18.01 \pm 1.62 \mu\text{mol/l}$ (IC al 95% 16.39 a $19.63 \mu\text{mol/l}$) respectivamente (tabla 5).

Por otro lado, en el grupo B si existió diferencia significativa, ya que se presentó disminución en los valores de fructosamina registrados para esta fracción y cuyos resultados son: para el basal, $26.20 \pm 2.03 \mu\text{mol/l}$ (IC al 95% de 24.17 a $28.23 \mu\text{mol/l}$), mientras que el valor registrado al final del tratamiento con vitamina E fué de $7.07 \pm 0.98 \mu\text{mol/l}$ (IC al 95% de 6.09 a $8.05 \mu\text{mol/l}$) (ver tabla 6).

Para el caso de los datos agrupados, se observó una disminución significativa en las concentraciones de fructosamina, siendo el valor basal de $24.22 \pm 1.42 \mu\text{mol/l}$ (IC al 95% de 22.8 a $25.64 \mu\text{mol/l}$) y para el período final de vitamina E de $12.86 \pm$

1.23 μ mol/l (IC al 95% de 11.63 a 14.09 μ mol/l), correspondiendo una $p < 0.05$ (tabla 7).

ANALISIS ENTRE TRATAMIENTOS. Los análisis efectuados a través de una ANOVA, mostraron que no existió diferencias significativas entre el tratamiento con vitamina E y el control (placebo) (gráfica 9).

FRACCION ALFA-2.

En el grupo A, se observó una diferencia significativa entre el basal 36.58 \pm 2.94 μ mol/l (IC al 95% de 33.64 a 39.52 μ mol/l) y el valor correspondiente al final de la ingesta de vitamina E, el cual se muestra significativamente menor al anterior, siendo de 31.16 \pm 3.41 μ mol/l (IC al 95% de 27.75 a 34.57 μ mol/l), con una $p < 0.05$ (tabla 5).

Para el grupo B no se encontró disminución alguna (tabla 6).

Mientras que para los datos de forma agrupada se registró una diferencia significativa entre el período final de vitamina E con respecto al basal, cuyos valores

fueron de $32.42 \pm 2.30 \mu\text{mol/l}$ (IC al 95% de 30.21 a $34.62 \mu\text{mol/l}$) y 36.05 ± 2.06 (IC al 95% de 33.99 a $38.11 \mu\text{mol/l}$) respectivamente, con una $p < 0.05$ (ver tabla 7).

ANALISIS ENTRE TRATAMIENTOS. Al llevar a cabo el análisis estadístico para establecer si existía alguna diferencia significativa entre los tratamientos, (vitamina E y placebo), se observó que en ninguno de los casos esta diferencia se presentó (ver gráfica 10).

FRACCION BETA.

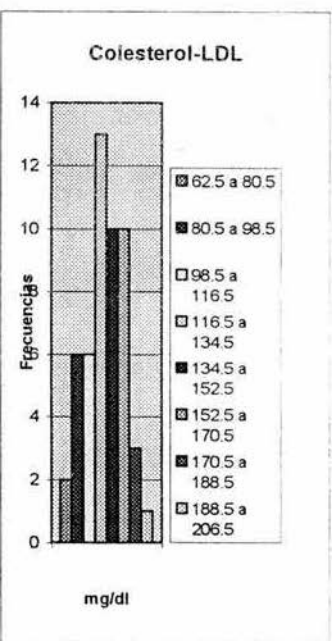
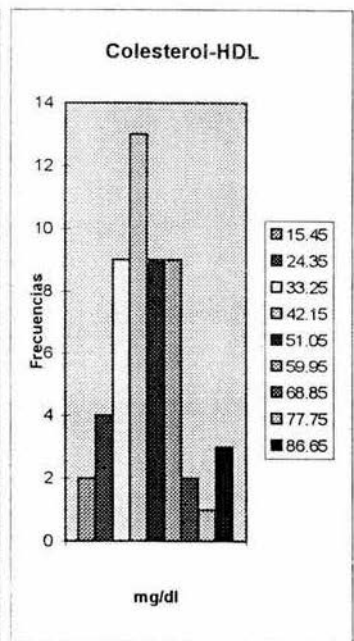
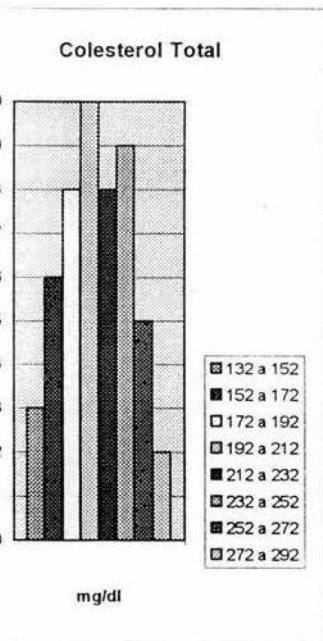
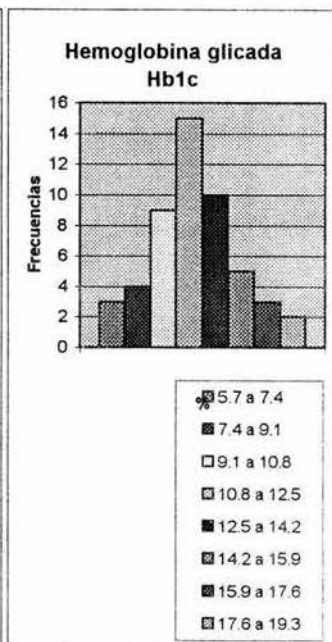
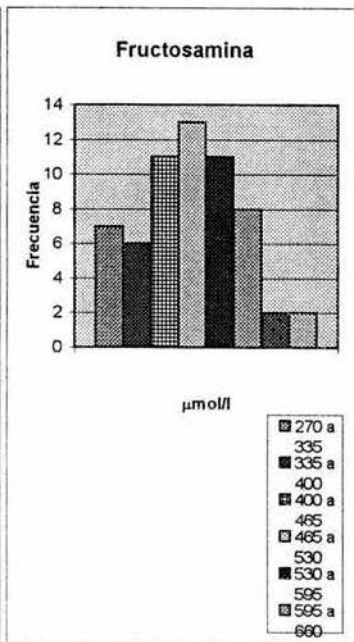
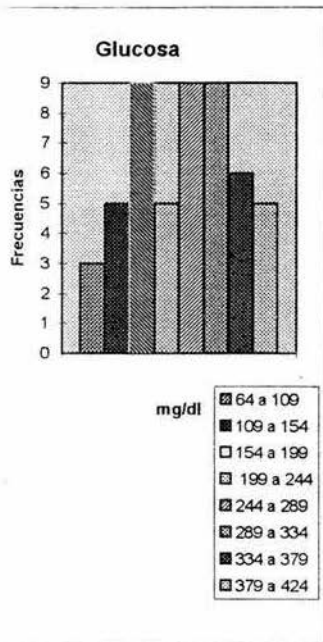
ANALISIS TEMPORAL. No se presentó diferencia significativa entre el valor basal y los períodos finales de vitamina E, tanto para el grupo A como para el grupo B, sucediendo lo mismo al trabajar con los datos agrupados (tablas 5, 6 y 7).

ANALISIS ENTRE TRATAMIENTOS. No se encontró diferencias significativas entre el tratamiento con vitamina E y placebo al emplear la t de "student", siendo este mismo resultado al aplicar el análisis de varianza (ANOVA) (ver gráfica 11).

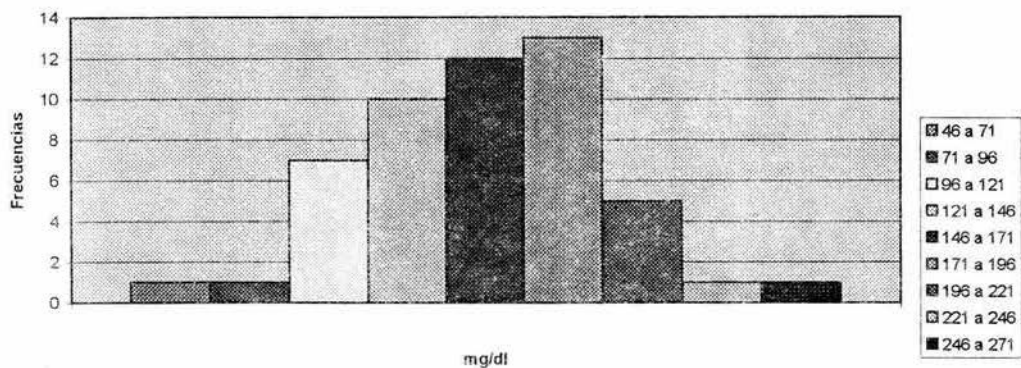
FRACCION DE ALBUMINA.

ANALISIS TEMPORAL. No se encontraron diferencias significativas para ninguno de los grupos, así como para los datos agrupados (tablas 5, 6 y 7).

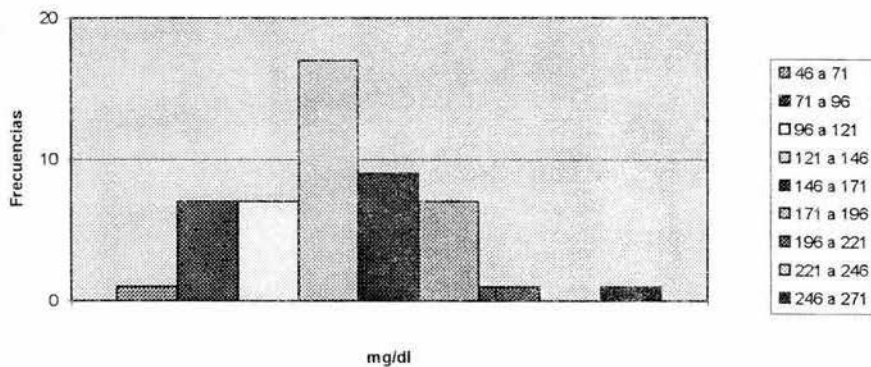
ANALISIS ENTRE TRATAMIENTOS. El resultado obtenido tanto con la t de "student" como con el análisis de varianza (ANOVA), fué de no existencia de diferencias significativas entre la vitamina E y el placebo (ver gráfica 12).



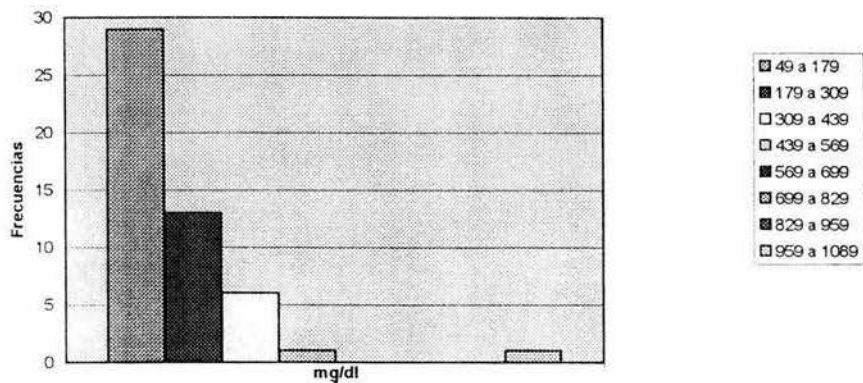
Apo-A



Apo-B



Triglicéridos



Distribución de Frecuencias de las variables

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS PACIENTES

							TIPO DE DIABETES		MEDICAMENTOS PARA CONTROLAR LA GLICEMIA				
EDAD (años)		TALLA (mts)	PESO (kg)	IMC (kg/mt)	T.A.	SEXO (f/m)	DURACIÓN DE LA DM (años)	DMID (%)	DMNID (%)	HPG (%)	HPG + INSULINA (%)	SUL. + BIG. (%)	INSULINA (%)
GRUPO A	40.3	1.63	65.8	24.8	115/72	15/12	9.7	44.4	55.5	11.1	33.3	11.1	44.4
	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-		+/-						
	16.9	0.10	13.6	5.47	20.7/7.9		7.6						
GRUPO B	43.7	1.59	61.1	24.0	117/72.5	17/7	11.9	41.6	58.3	8.33	20.8	12.5	58.3
	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-		+/-						
	16.7	0.08	9.15	3.46	21.6/6.6		6.2						
AGRUPADOS	41.9	1.61	63.6	24.4	115.7/72	32/19	10.7	43.1	56.8	9.80	27.4	11.7	50.9
	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-		+/-						
	16.7	0.11	11.8	4.61	20.6/7.3		7.0						

Tabla 1. M = masculino; F = femenino; HPG = hipoglucemiante; BIG = biguanidas; IMC = índice de masa corporal.

COMPONENTES DEL SUERO GRUPO A (VITAMINA E /PLACEBO)

COMPONENTES DEL SUERO REGISTRADOS	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR
	MUESTREO BASAL	MUESTREO 2	MUESTREO 4	MUESTREO 8	MUESTREO 2'	MUESTREO 4'	MUESTREO 8'
GLUCOSA	229.1+/-30	203.8+/-41	227.6+/-35	221.6+/-40	192.7+/-39	230.2+/-41	184.9+/-51
FRUCTO.	486.8+/-19.9	468.6+/-20.2	490.6+/-19.9	462.6+/-20.6	459.9+/-27.6	445.2+/-22.7	441.2+/-26.1
HbA _{1c}	12.4+/-0.52			11.94+/-0.55			12.34+/-0.6
TRIGLIC.	195.7+/-36.3	223.9+/-49.6	231+/-53.5	170.2+/-24.6	230.9+/-50.2	205.7+/-28.9	189.9+/-25.7
COL. TOTAL	213.16+/-7.5	211+/-9.2	202.5+/-7.5	200.2+/-7.5	195.4+/-7.1	209.9+/-7.3	194.3+/-8.8
COL.-LDL	139.4+/-6	137.6+/-7.5	132.2+/-7.4	125.3+/-8.6	123.1+/-6.5	140.04+/-7.6	132.6+/-8.1
COL.-HDL	43.6+/-2.8	43.4+/-3.1	41.4+/-2.8	43.9+/-3.1	41.1+/-3.1	38.1+/-2.6	36.5+/-2.5
APO-A	150.2+/-6.8	164.3+/-7	133.7+/-6.2	157.4+/-6.1	147.4+/-5.6	140.4+/-4.1	134.7+/-5.3
APO-B	145.1+/-7.7	148.7+/-8.5	142.8+/-8	149.1+/-10.1	131.2+/-6.4	147.8+/-7.8	139.6+/-9
ALBUMINA	5.2+/-0.06	5.2+/-0.01	5.2+/-0.1	5.04+/-0.01	5.05+/-0.09	5.5+/-0.1	5.5+/-0.1
PROT. TOT.	8.2+/-0.26	8.1+/-0.26	8+/-0.3	7.8+/-0.17	7.4+/-0.1	7.2+/-0.1	7.4+/-0.1

Tabla2. Valores registrados durante el periodo en que se realizó el estudio. Del muestreo 2 al 8 se administró vitamina E y del muestreo 2' al 8' se dio placebo. Glucosa (mg/dl); Fructo =fructosamina ($\mu\text{mol/l}$); HbA_{1c} =Hemoglobina glicada (%); Triglic.=Triglicéridos (mg/dl); Col. total =Colesterol total (mg/dl); Col-HDL =Colesterol-HDL (mg/dl); Col-LDL =Colesterol-LDL (mg/dl); Apo A =Apolipoproteína A-I (mg/dl); Apo B =Apolipoproteína B-100 (mg/dl); Albúmina (g/dl); prot. total =proteínas totales (g/dl).

COMPONENTES DEL SUERO GRUPO B (PLACEBO/VITAMINA E)

COMPONENTES DEL SUERO REGISTRADOS	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR
	MUESTREO BASAL	MUESTREO 2	MUESTREO 4	MUESTREO 8	MUESTREO 2'	MUESTREO 4'	MUESTREO 8'
GLUCOSA	238.1+/-36	239.8+/-35	224+/-38	208.4+/-47	205.1+/-37	219.1+/-47	184.7+/-46
FRUCTO.	489.2+/-27	469.1+/-25.7	474.8+/-26	436.8+/-23.6	459.4+/-28.1	452.4+/-28.8	467.8+/-27
HbA _{1c}	11.77+/-0.56			11.25+/-0.59			11.96+/-0.67
TRIGLIC.	172.5+/-20.4	187.5+/-28.9	153.1+/-22.6	153.8+/-25.3	194+/-30.7	216.2+/-46.9	206.5+/-33.2
COL. TOTAL	201.05+/-6.9	194+/-8.4	194.08+/-8.5	181.2+/-8.3	185+/-9.6	203.6+/-11.4	193.6+/-9.1
COL.-LDL	124.5+/-5.6	122.1+/-8.6	125.04+/-6.1	107.8+/-6.3	116.8+/-8.2	132.7+/-9.3	136.7+/-8.08
COL.-HDL	49.8+/-3.7	51+/-4.07	49.1+/-3.9	49.7+/-3.5	43.5+/-2.7	43.6+/-3.2	41.7+/-2.8
APO-A	162.6+/-8.8	169.2+/-8.4	140.7+/-6	161.9+/-7	148.3+/-6	155.04+/-7.1	150.5+/-6.2
APO-B	126.1+/-7.9	124.9+/-7.5	129.1+/-7.4	124.7+/-7.2	127.1+/-8.5	136.4+/-8.5	133.5+/-7.1
ALBUMINA	5.2+/-0.08	5.2+/-0.1	5.01+/-0.1	5.1+/-0.1	4.8+/-0.09	5.32+/-0.07	5.1+/-0.06
PROT. TOT.	7.9+/-0.1	8.1+/-0.1	7.6+/-0.1	7.4+/-0.1	7.9+/-0.2	7.1+/-0.1	7.2+/-0.1

Tabla 3. Valores registrados durante el periodo en que se llevó a cabo el estudio. Del muestreo 2 al 8 se administró placebo y del 2' al 8' se ingirió vitamina E. Glucosa (mg/dl); Fructo =fructosamina ($\mu\text{mol/l}$); HbA_{1c} =Hemoglobina glicada (%); Triglic.=Triglicéridos (mg/dl); Col. total =Colesterol total (mg/dl); Col-HDL =Colesterol-HDL (mg/dl); Col-LDL =Colesterol-LDL (mg/dl); Apo A =Apolipoproteína A-I (mg/dl); Apo B =Apolipoproteína B-100 (mg/dl); Albúmina (g/dl); prot. total =proteínas totales (g/dl).

COMPONENTES DEL SUERO DATOS ACUMULADOS

COMPONENTES DEL SUERO REGISTRADOS	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR
	MUESTREO BASAL	MUESTREO 2	MUESTREO 4	MUESTREO 8	MUESTREO 2'	MUESTREO 4'	MUESTREO 8'
GLUCOSA	233+/-32.9	204+/-38.9	223+/-41.1	204+/-43.5	215+/-38.3	227+/-39.7	195+/-49.7
FRUCTO.	488+/-16.35	464.4+/-16.7	473.4+/-17	465.1+/-16.5	464.4+/-18.7	459.1+/-17.1	439.1+/-17.5
HbA _{1c}	12.1+/-2.73			11.95+/-3.05			11.83+/-0.42
TRIGLIC.	184.8+/-21.3	210.1+/-30	224+/-35.6	187.6+/-20.4	209.7+/-29.1	180.4+/-18.7	172.9+/-18.1
COL. TOTAL	207.7+/-5.1	199.06+/-6.8	203+/-6.6	197.1+/-6.5	194.7+/-5.4	202.4+/-5.6	188.2+/-6.1
COL.-LDL	139.4+/-4.4	128.1+/-5.7	132.4+/-5.8	130.7+/-5.9	122.6+/-5.3	132.9+/-5	120.9+/-5.4
COL.-HDL	46.5+/-2.3	43.4+/-2.1	42.4+/-2.1	42.9+/-2.1	45.9+/-2.6	43.3+/-2.42	42.7+/-2.3
APO-A	156.1+/-5.5	156.9+/-4.8	143.9+/-4.8	154.1+/-4.3	158.08+/-5.2	140.5+/-3.7	147.5+/-4.7
APO-B	136.1+/-5.6	138.5+/-6.1	139.7+/-5.8	141.8+/-6.3	128.1+/-4.9	138.9+/-5.5	132.4+/-5.8
ALBUMINA	5.2+/-0.05	5.06+/-0.07	5.2+/-0.06	5.1+/-0.06	5.1+/-0.08	5.3+/-0.08	5.1+/-0.07
PROT. TOT.	8.09+/-0.1	7.6+/-0.17	7.5+/-0.1	7.5+/-0.1	7.8+/-0.3	7.4+/-0.08	7.4+/-0.08

Tabla 4. Valores de los 51 pacientes registrados durante la administración de vitamina E (muestreo 2 al 8) y de placebo (muestreo 2' al 8'). Glucosa (mg/dl); Fructo =fructosamina ($\mu\text{mol/l}$); HbA_{1c} =Hemoglobina glicada (%); Triglic.=Triglicéridos (mg/dl); Col. total =Colesterol total (mg/dl); Col-HDL =Colesterol-HDL (mg/dl); Col-LDL =Colesterol-LDL (mg/dl); Apo A =Apolipoproteína A-I (mg/dl); Apo B =Apolipoproteína B-100 (mg/dl); Albúmina (g/dl); prot. total =proteínas totales (g/dl).

CONCENTRACIONES DE FRUCTUOSAMINA EN LAS FRACCIONES ELECTROFORETICAS DE SUERO GRUPO A (VITAMINA E/PLACEBO)

FRACCIONES ELECTROFORETICAS	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR
	MUESTREO BASAL	MUESTREO 2	MUESTREO 4	MUESTREO 8	MUESTREO 2'	MUESTREO 4'	MUESTREO 8'
ALFA-1	22.4+/-1.9	25.7+/-2.01	17.5+/-1.3	18.01+/-1.6	15.08+/-17	8.3+/-1.1	6.8+/-1.06
ALFA-2	36.5+/-2.9	42.3+/-5.4	35.2+/-3.4	31.1+/-3.4	41.6+/-4.6	29.5+/-2.2	33.2+/-4.1
BETA	69.08+/-3.5	53.7+/-3.6	61.5+/-3.5	62.7+/-4.6	55.2+/-3.9	58.4+/-4.09	58.1+/-4.9
ALBUMINA	290.6+/-13.7	301.8+/-13.7	325.5+/-13.4	306.4+/-14.1	302.4+/-18.3	303.3+/-15.9	288.4+/-15
GAMMA	59.2+/-3.4	44.3+/-3.06	51.02+/-3.08	44.1+/-2.6	44.1+/-2.6	45.6+/-2.7	54.7+/-5.3

Tabla 5. Valores correspondientes al periodo de ingesta de vitamina E. (muestreo 2 al 8) y al periodo de administración de placebo (muestreo 2' al 8').

Los valores de todas las fracciones electroforéticas están dadas en $\mu\text{mol/l}$.

CONCENTRACIONES DE FRUCTUOSAMINA EN LAS FRACCIONES ELECTROFORETICAS DE SUERO GRUPO B (PLACEBO/VITAMINA E)

FRACCIONES ELECTROFORETICAS	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR
	MUESTREO BASAL	MUESTREO 2	MUESTREO 4	MUESTREO 8	MUESTREO 2'	MUESTREO 4'	MUESTREO 8'
ALFA-1	26.2+/-2.03	26.05+/-2.1	20.07+/-2.07	17.9+/-1.6	13.9+/-1.2	7.2+/-1.1	7.07+/-0.9
ALFA-2	35.4+/-2.9	36.9+/-2.8	30.6+/-2.6	30.1+/-2.7	35.3+/-3.2	27.4+/-2.7	33.8+/-3.09
BETA	65.9+/-4.7	55.2+/-4.3	55.02+/-3.6	53.7+/-4.1	55.06+/-4.6	58.6+/-6.1	58.8+/-4.1
ALBUMINA	355.2+/-47.9	302.2+/-17.2	319.4+/-18.02	293.2+/-15.5	307.8+/-18.8	316.6+/-18.7	315.19+/-18.4
GAMMA	57.5+/-4.2	49.8+/-3.6	50.1+/-2.6	41.6+/-3.3	47.2+/-4.08	42.2+/-3.5	52.04+/-4.2

Tabla 6. Valores correspondientes al período de ingesta de placebo. (muestreo 2 al 8) y al periodo de administración de vitamina E (muestreo 2' al 8').

Los valores de todas las fracciones electroforéticas están dadas en $\mu\text{mol/l}$.

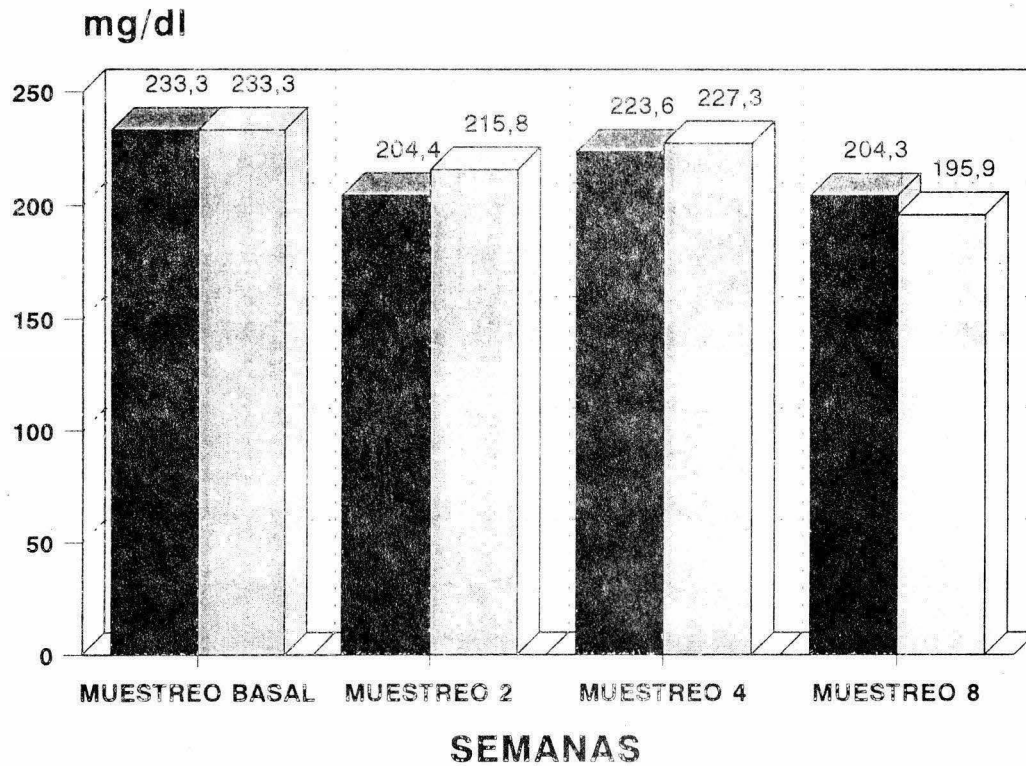
**CONCENTRACIONES DE FRUCTUOSAMINA EN LAS FRACCIONES ELECTROFORETICAS
DE SUERO DATOS ACUMULADOS.**

FRACCIONES ELECTROFO- RETICAS	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR	X+/- ERROR ESTANDAR
	MUESTREO BASAL	MUESTREO 2	MUESTREO 4	MUESTREO 8	MUESTREO 2'	MUESTREO 4'	MUESTREO 8'
ALFA-1	24.2+/-1.4	20.3+/-1.4	12.9+/-1.1	12.8+/-1.2	20.4+/-1.5	13.8+/-1.4	12.05+/-1.2
ALFA-2	36.05+/-2.06	35.8+/-2.1	31.7+/-2.3	32.4+/-2.3	39.3+/-2.7	30.06+/-1.7	31.8+/-2.5
BETA	67.6+/-2.8	54.3+/-2.9	60.2+/-3.3	60.9+/-3.14	55.1+/-2.9	56.8+/-2.7	56.06+/-3.2
ALBUMINA	21.05+/-12.8	304.6+/-11.3	321.2+/-11.1	310.9+/-11.3	302.3+/-12.4	310.8+/-11.8	290.7+/-10.7
GAMMA	58.8+/-2.7	45.6+/-2.4	47.1+/-2.3	47.8+/-2.4	46.5+/-2.2	47.7+/-1.9	48.6+/-3.3

Tabla 7. Valores de los 51 pacientes registrados durante el periodo de estudio. Del muestreo 2 al 8 se ingirió vit E, mientras que del muestreo 2' al 8' la ingesta fue del placebo.

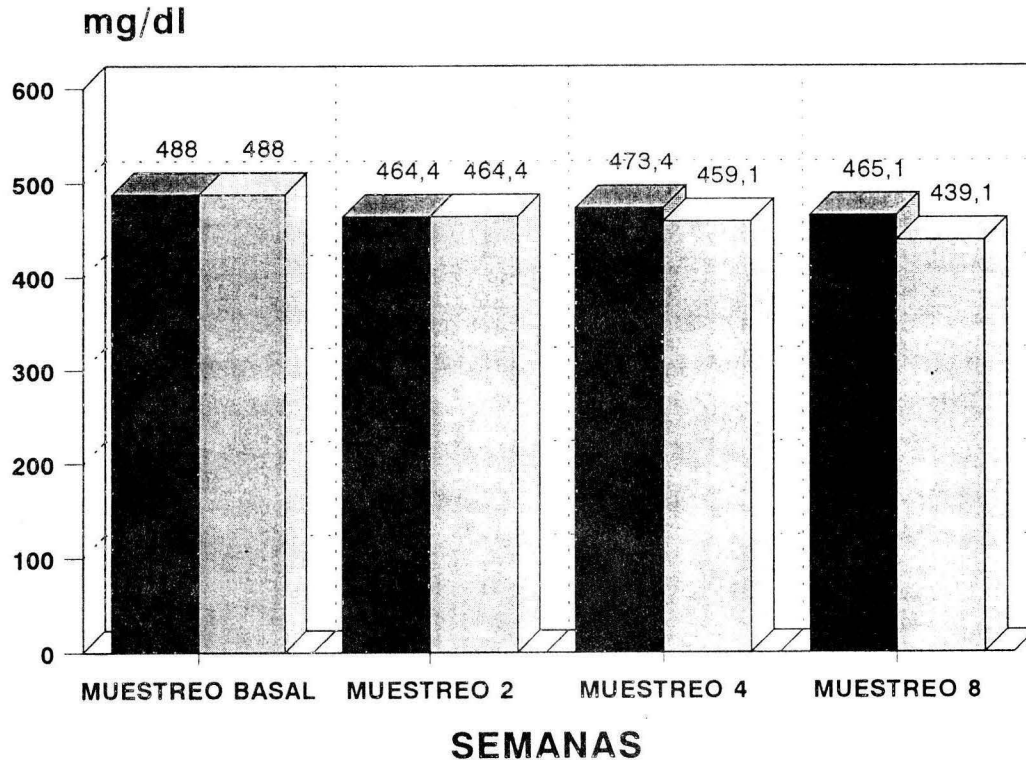
Los valores de todas las fracciones electroforéticas están dadas en $\mu\text{mol/l}$.

CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA DATOS ACUMULADOS



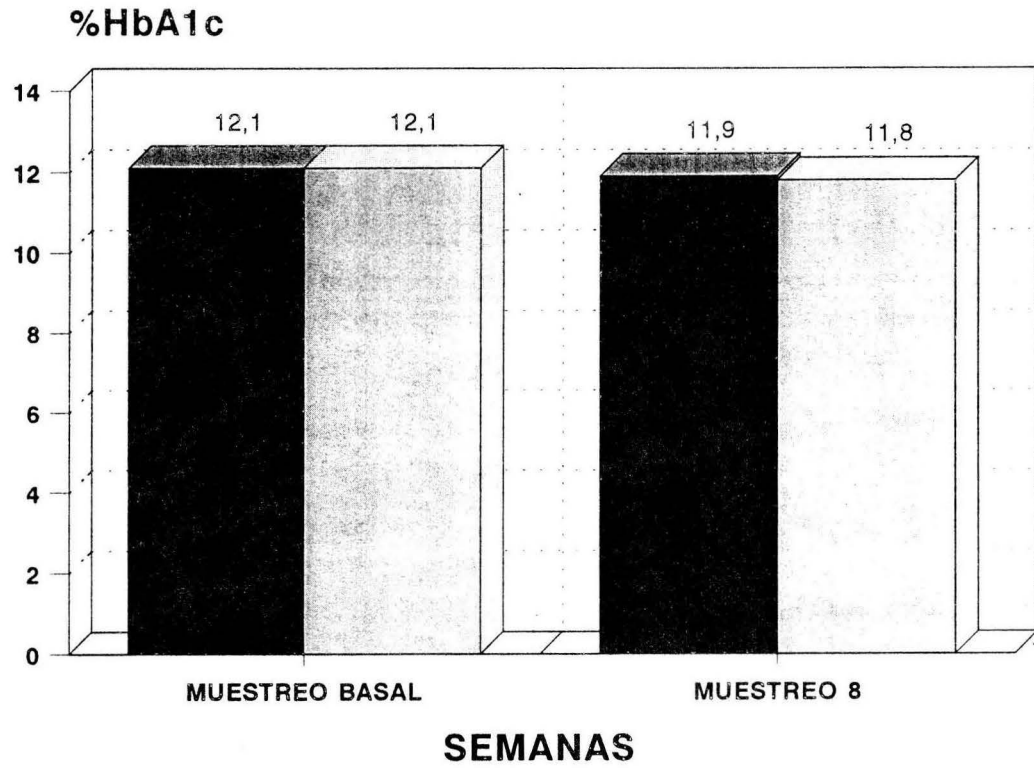
Gráfica 1

CONCENTRACIÓN DE FRUCTOSAMINA DATOS ACUMULADOS



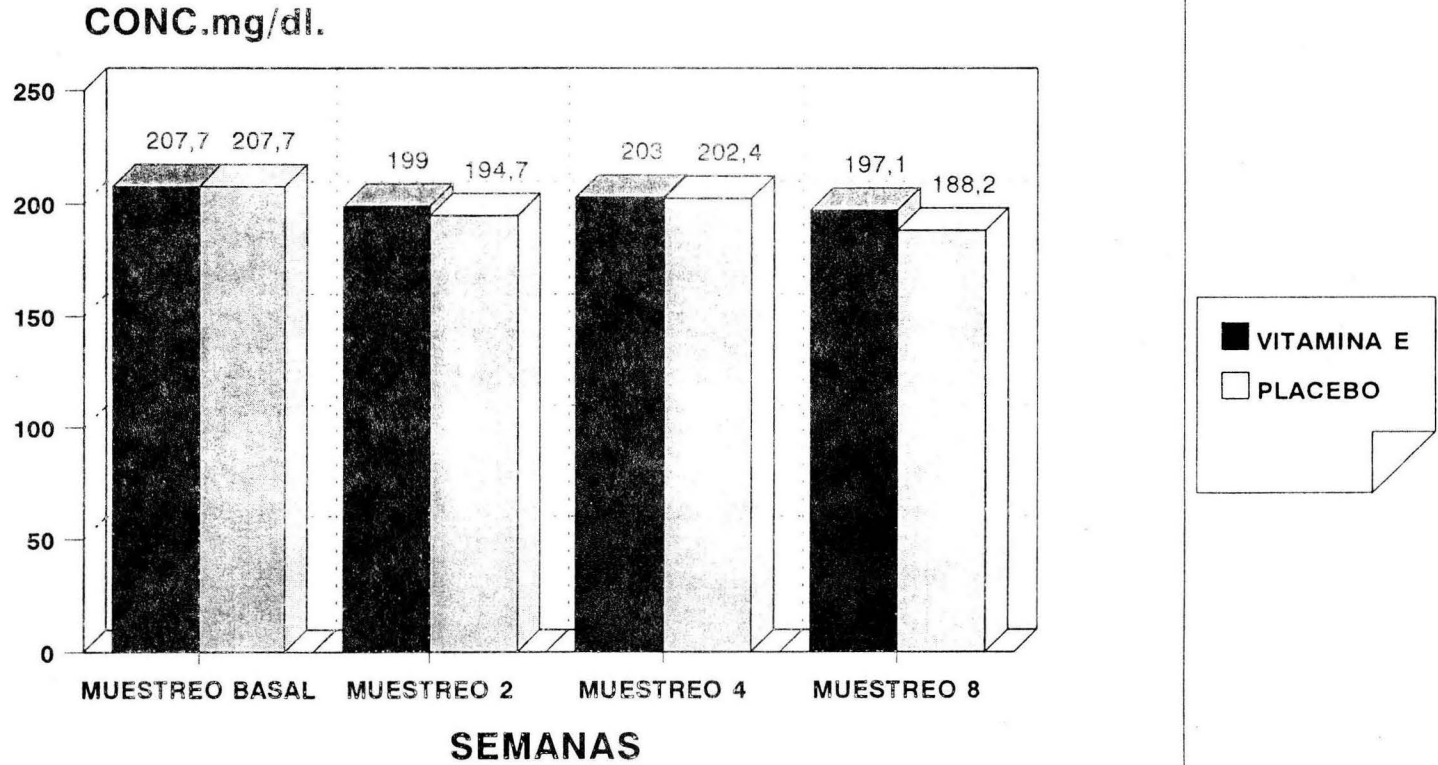
■ VITAMINA E
□ PLACEBO

HEMOGLOBINA GLICADA (HbA1c) DATOS ACUMULADOS



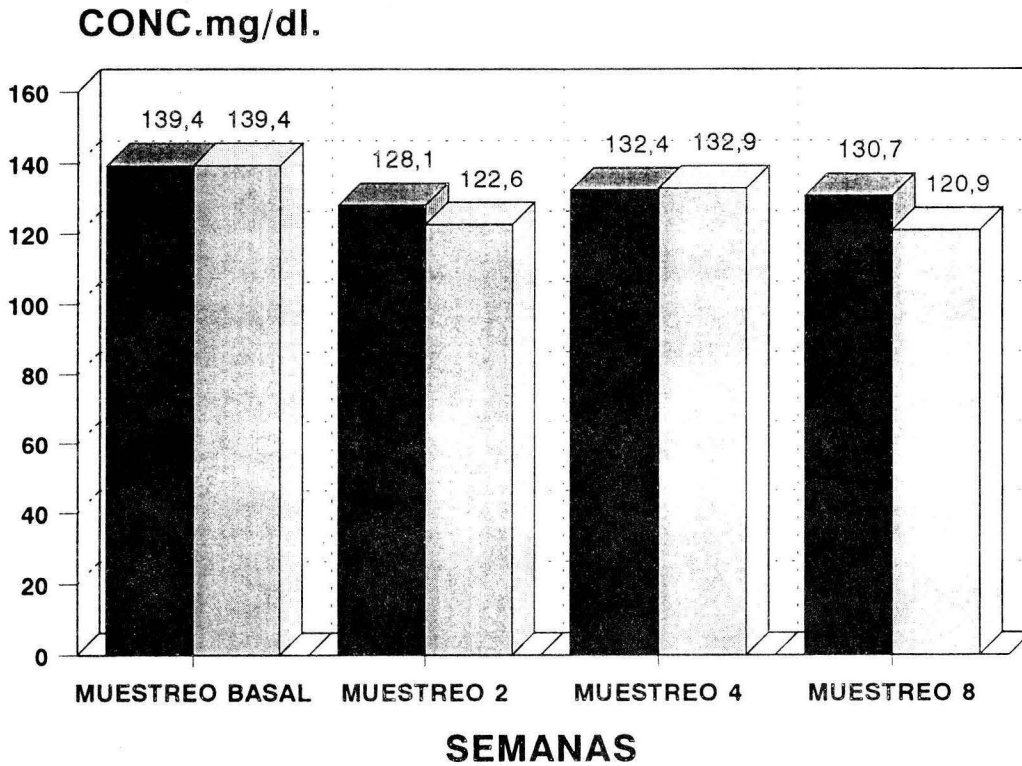
■ VITAMINA E
□ PLACEBO

CONCENTRACIÓN DE COLESTEROL TOTAL DATOS ACUMULADOS



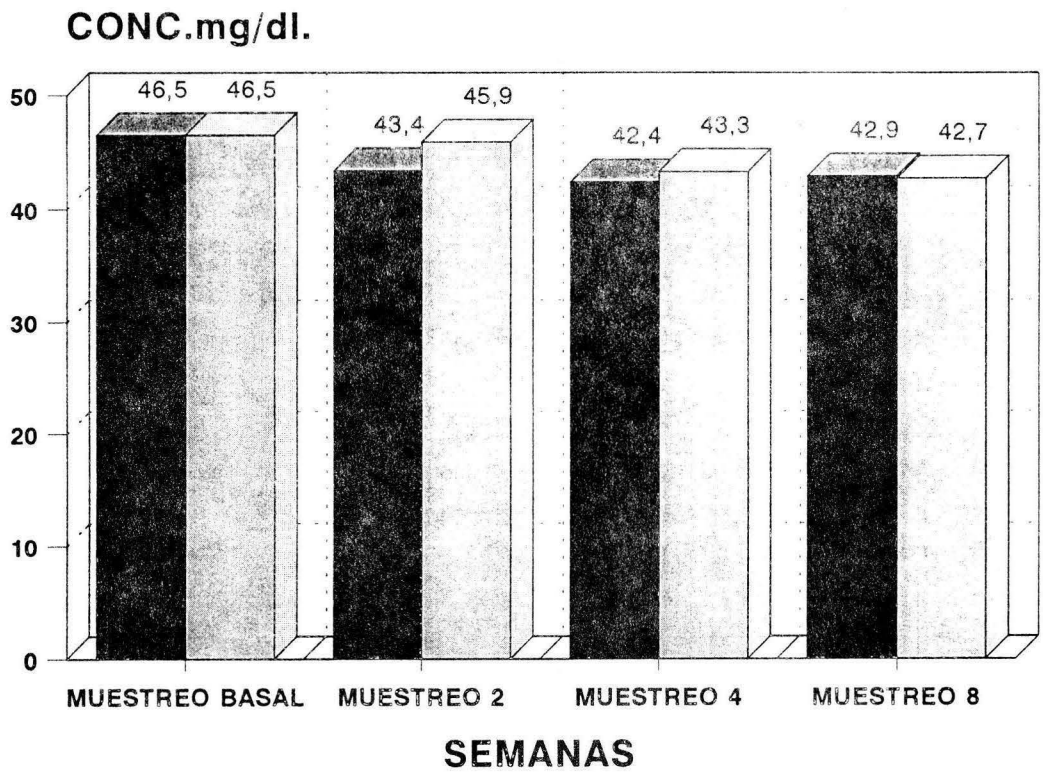
Gráfica 4

CONCENTRACIÓN DE COLESTEROL-LDL DATOS ACUMULADOS



■ VITAMINA E
□ PLACEBO

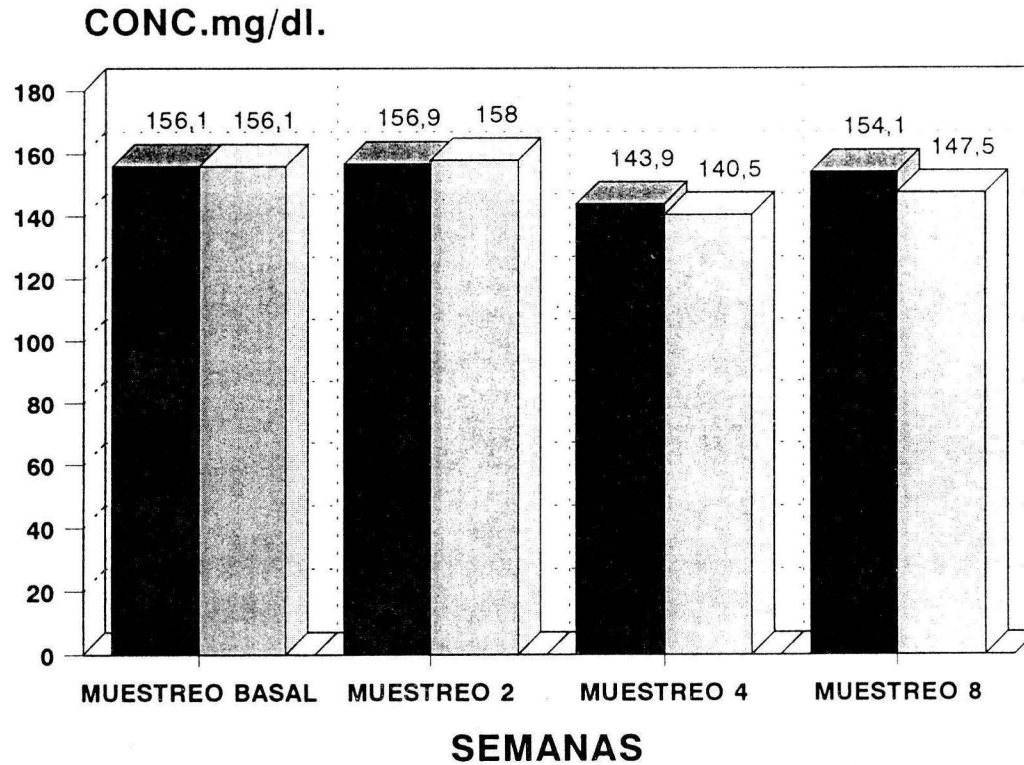
CONCENTRACIÓN DE COLESTEROL-HDL DATOS ACUMULADOS



■ VITAMINA E
□ PLACEBO

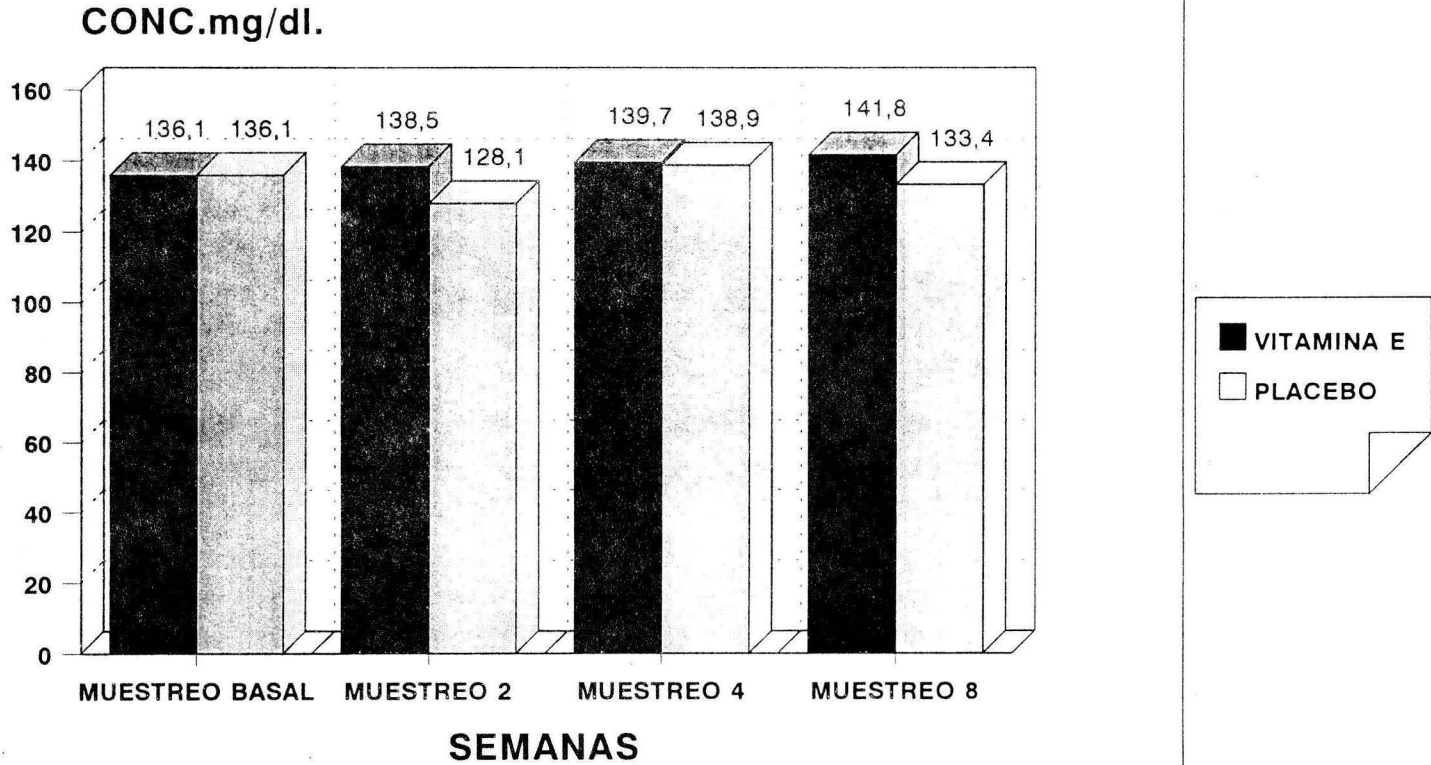
Gráfica 6

CONCENTRACIÓN DE APOLIPROTEINA A-I DATOS ACUMULADOS



■ VITAMINA E
□ PLACEBO

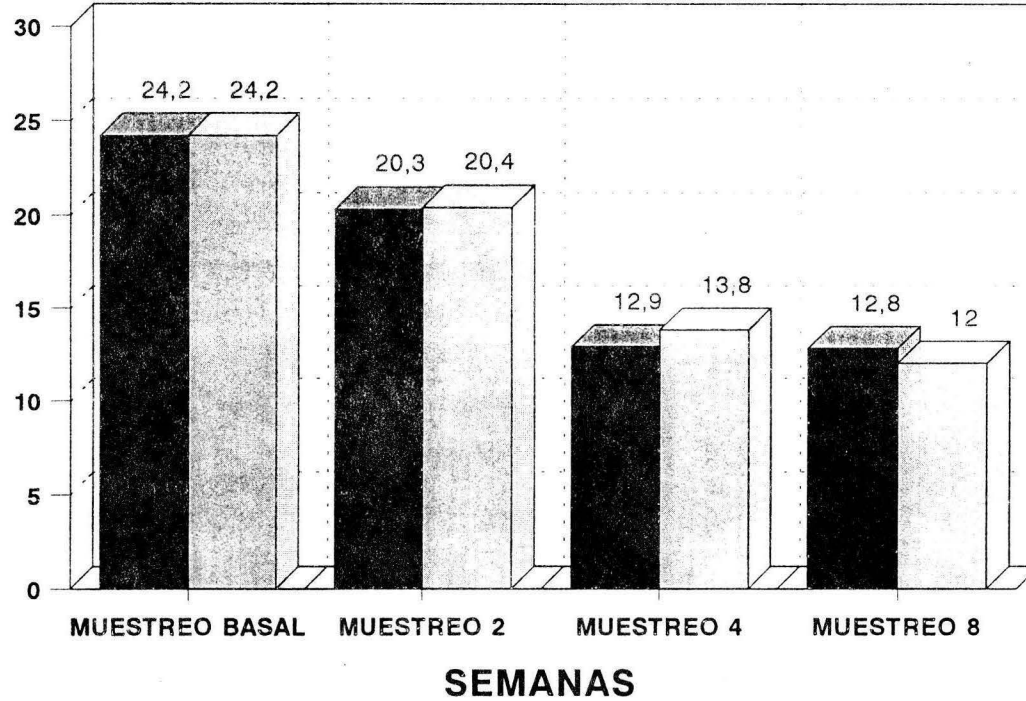
CONCENTRACIÓN DE APOLIPROTEINA B-100 DATOS ACUMULADOS



Gráfica 8

CONCENTRACIÓN DE FRUCTOSAMINA EN LA FRAC. ALFA-1 POR ELECTROFORESIS (DATOS AGRUPADOS)

CONC.de fructosamina (umol/l)

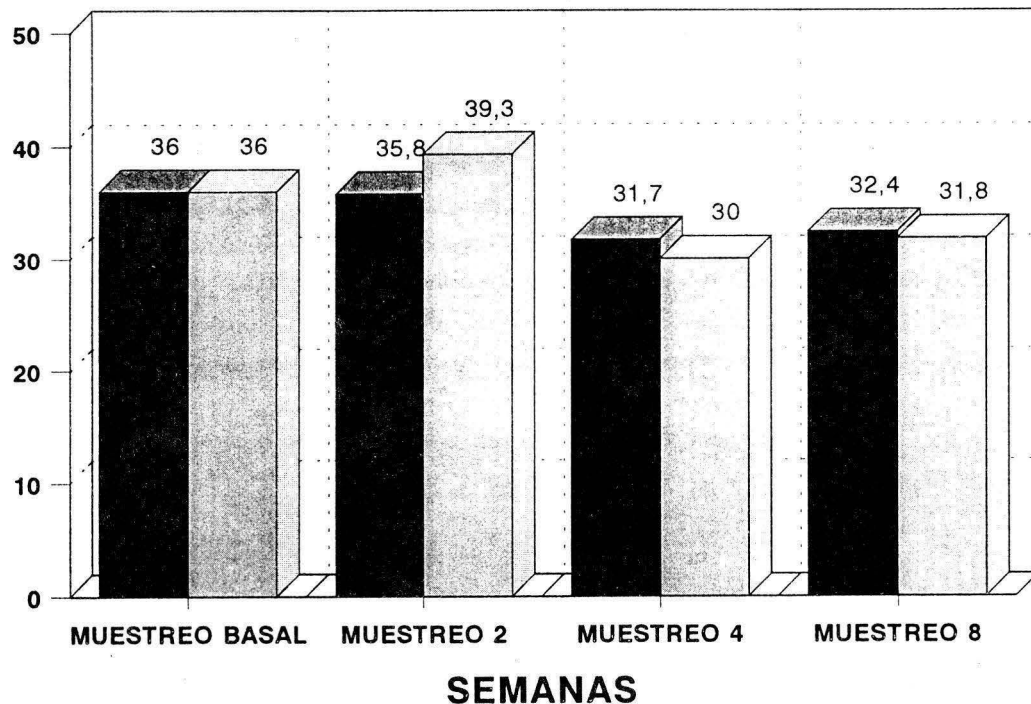


■ VITAMINA E
□ PLACEBO

Gráfica 9

CONCENTRACIÓN DE FRUCTOSAMINA EN LA FRAC. ALFA-2 POR ELECTROFORESIS (DATOS ACUMULADOS)

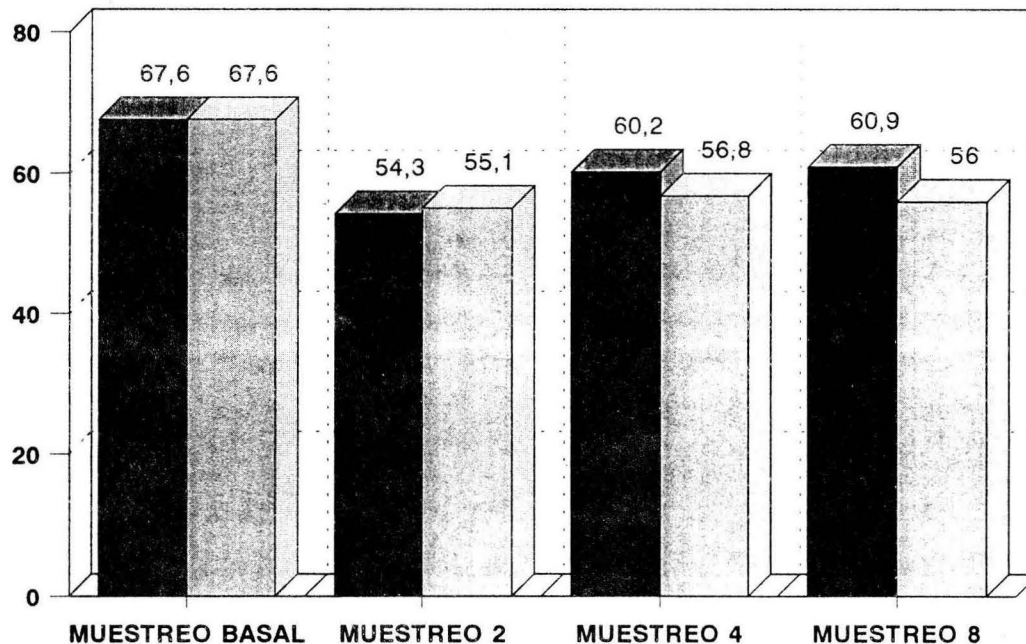
CONC.de fructosamina (umol/l)



■ VITAMINA E
□ PLACEBO

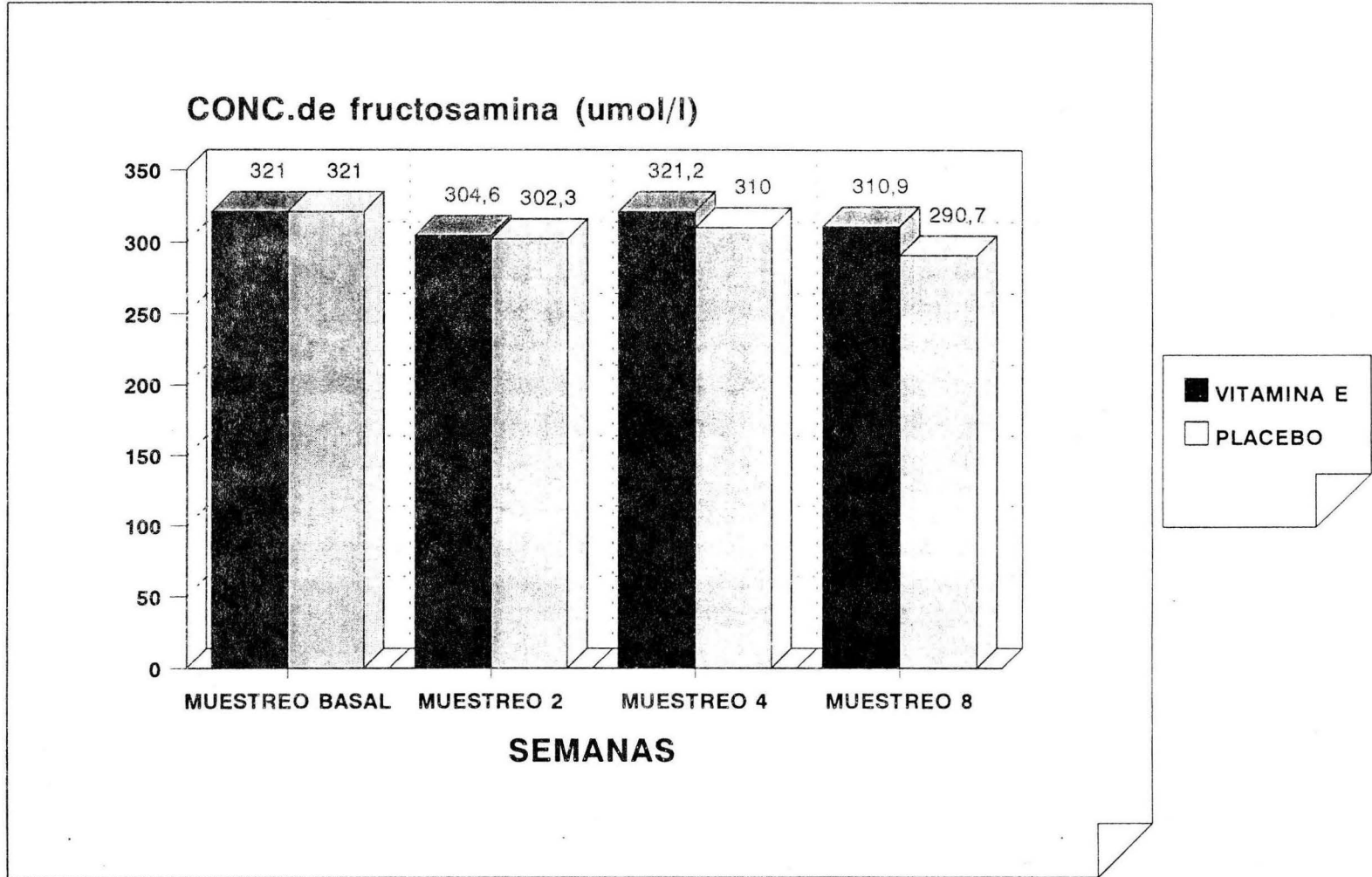
CONCENTRACIÓN DE FRUCTOSAMINA EN LA FRAC. BETA POR ELECTROFORESIS (DATOS ACUMULADOS)

CONC.de fructosamina (umol/l)



■ VITAMINA E
□ PLACEBO

CONCENTRACIÓN DE FRUCTOSAMINA EN LA FRAC. ALBUMINA POR ELECTROFORESIS (DATOS ACUMULADOS)



Gráfica 12

DISCUSION

Como se mencionó anteriormente, el 8.2% de la población de México es afectada por la DM. Hasta ahora, la determinación de la concentración de la glucosa en sangre es el *sine qua non* para la detección y la terapia de la DM. Sin embargo, los resultados de la concentración de la glucosa en sangre pueden verse modificados por diferentes factores, como son, la aplicación de insulina, el no presentar un ayuno adecuado, etc. y para poder tener un registro confiable de la concentración de glucosa se tendrían que efectuar pruebas diarias lo que lo hace inoperante. Una prueba reciente que valora la cantidad de proteínas totales del suero que han sido glicadas, es la prueba de fructosamina, la cual es un índice de la concentración media de la glucosa sanguínea de las semanas precedentes al día de la prueba.

El ensayo de fructosamina, mide la glicación de por lo menos quince días anteriores. Esta prueba, sin embargo, aún no está ampliamente usada para monitorear el estado metabólico de los pacientes diabéticos.

Existen varios métodos para determinar el grado de glicación de las proteínas del suero, también llamado fructosamina, los cuales son:

- 1) Prueba de la fenhidrazina,
- 2) Prueba de la furozina,
- 3) Cromatografía de afinidad con ácido m-aminofenilburónico,
- 4) Prueba con ácido tiobarbitúrico,
- 5) Procedimiento colorimétrico de la reducción del Nitroazul de tetrazolio (NBT).

Los valores de la concentración de fructosamina pueden distinguir a los individuos normales de los pacientes con DM, y de estos, puede distinguir a aquellos con un buen control de la glicemia y quienes tienen un control pobre de la misma.

La prueba de la fructosamina fue en su inicio diseñada para medir el total de las proteínas del suero glicadas y no solamente la albúmina glicada. Trabajos anteriores, han encontrado que las concentraciones de albúmina glicada correlacionan con los resultados del total de las proteínas glicadas del suero (89).

La albúmina representa el 50% del total de las proteínas del plasma, por lo que no es necesario medir la albúmina glicada de forma específica, puesto que la concentración de la fructosamina total del suero refleja a su vez a la albúmina glicada.

La prueba de NBT ha sido adaptada a una amplia variedad de analizadores químicos automatizados, tales como el Hitachi 705 Systems empleado en el presente trabajo.

En la literatura se reporta un coeficiente de variación (CV) para pruebas de rutina del 2% al 7%, y un CV interlaboratorio de 5.4% (3). En el presente estudio, se obtuvo un CV para las pruebas de rutina del 2.1% para el caso del control alto y para el control normal del 2.92%, apegándose al intervalo arriba mencionado.

Cabe mencionar que se eligió cuantificar la fructosamina del suero, puesto que algunos anticoagulantes empleados para obtener muestras de plasma tales como la heparina y el EDTA alteran los resultados de fructosamina, así mismo, la mayoría de los resultados de fructosamina reportados en la bibliografía revisada se obtuvieron de la cuantificación de fructosamina del suero.

HEMOGLOBINA GLICADA Y FRUCTOSAMINA TOTAL.

En un estudio anterior (69) en el que se probó la acción antioxidante de la vitamina E (α -tocoferol) como inhibidor de la reacción no enzimática de glicación de las proteínas sanguíneas de pacientes con DM, se reportó que no se observaron

cambios significativos de la glucosa sanguínea, mientras que, por otro lado, reportaron disminuciones significativas en las concentraciones de hemoglobina glicada (HbA_{1c}), así como también disminuciones en la glicación no enzimática de las proteínas del suero de los pacientes que se sometieron a la administración de dos dosis diferentes de vitamina E (1200mg y 600mg al día).

Por el contrario, los pacientes que estuvieron bajo la administración de un placebo, no presentaron cambios significativos para estos mismos componentes del suero arriba mencionados (69).

Otros autores (83,85) ya habían reportado resultados similares utilizando ratas en las que se indujo la diabetes como modelos experimentales, no encontrando tampoco ninguna mejoría en el control glicémico; sin embargo, reportaron una disminución significativa en la concentración de la hemoglobina glicada de estos animales. Estos resultados indicaron que la administración de la vitamina E reduce de manera significativa la glicación no enzimática de las proteínas.

Sin embargo, en el presente trabajo, no se hallaron cambios significativos en las concentraciones tanto de la hemoglobina glicada (HbA_{1c}) como en las concentraciones de fructosamina durante el período de administración de vitamina E (1200mg/día).

Recientemente se ha reportado resultados similares a los hallados en el presente trabajo (90), en donde los índices glicémicos, la glicación de las proteínas, incluyendo la hemoglobina glicada, albúmina glicada así como la glicación de las proteínas totales del suero y la LDL glicada no mostraron ningún cambio significativo con la vitamina E.

En otro estudio (84) en el cual se sometieron ratas diabéticas a dietas con deficiencias de vitamina E y dietas con suplementos de vitamina E, no se hallaron diferencias significativas en los niveles de fluorescencia del colágeno de la piel de las ratas, que es una forma de cuantificar la cantidad de productos avanzados de glicación, que a su vez son consecuencia de la glicación no enzimática de las proteínas. Sin embargo, si se obtuvieron cambios significativos en los niveles de peroxidación de lípidos (83), lo cual indica una menor peroxidación de los lípidos del suero en los sujetos diabéticos con dietas suplementadas con vitamina E.

Raven y colaboradores (90) encontraron que la suplementación con vitamina E reduce la susceptibilidad a la oxidación de las LDL, al menos en las LDL de menor densidad (buoyant LDL), lo cual trae como consecuencia una reducción en el riesgo aterogénico (91). La peroxidación de los lípidos y la glicación no enzimática de las proteínas pueden ambas involucrar intermediarios de radicales libres,

pudiéndose éstos derivarse de la autooxidación de la glucosa incrementando el estrés oxidativo en los pacientes con diabetes mellitus.

Trabajos realizados por otros autores (75), han sugerido que la administración de vitamina E trae como consecuencia modestas mejorías en el control metabólico de la glucosa, e incluso mejoría a la resistencia de la insulina.

Sin embargo, en el presente estudio se les suministró a los pacientes diabéticos una dosis alta de vitamina E (1200 mg/día) y no se observaron mejorías en las concentraciones de glucosa en suero. Esto pudiera deberse a que tanto los lípidos como la glucosa misma compiten por la vitamina E como antioxidante, resultando insuficiente la dosis de vitamina suministrada para evitar la autooxidación, tanto de los lípidos como de las moléculas de la glucosa, y por consiguiente la glicación no enzimática de las proteínas.

Cabe mencionar que tampoco se obtuvieron cambios significativos que mejoraran el control metabólico de los lípidos del suero en los pacientes diabéticos durante el período de administración de vitamina E.

LIPOPROTEINAS Y APOLIPROTEINAS.

Trabajos previos (88) han reportado que la reacción de glicación no enzimática de las proteínas constitutivas de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) (que está incrementada en los pacientes con diabetes mellitus) reduce el catabolismo de éstas, provocando un incremento de los niveles de las LDL del suero en dichos pacientes. Cabe recordar, que es ésta lipoproteína la que está involucrada en los procesos aterogénicos.

Se ha reportado que alrededor del 5% de los residuos de lisina se encuentran glicados en las LDL de pacientes diabéticos, mientras que en las LDL de no diabéticos es menor al 2% (88).

Cuando los residuos de lisina se encuentran glicados, la remoción de las LDL de la circulación disminuye de un 5-25% (96).

Los datos obtenidos en el presente estudio revelaron que no existieron cambios en las concentraciones de LDL durante la ingesta de vitamina E. Sin embargo, al hacer una comparación estadística entre la vitamina E y el placebo, se encontró una diferencia significativa con una $p < 0.05$, ya que durante la administración del placebo se registró una disminución de las concentraciones de este

componente del suero. Dichos resultados difieren de lo reportado en otro estudio, en el que se argumenta una mejoría en las concentraciones de LDL durante la administración de vitamina E (75).

Por otro lado, lo reportado en el presente trabajo concuerda con los resultados expuestos en otros estudios (83, 84 y 90), no encontrándose cambios significativos en las concentraciones de: colesterol-LDL, colesterol-HDL, colesterol total y triglicéridos.

Esto indica que no se modificó en ninguna forma la velocidad de remoción de estos componentes del suero bajo la acción de la vitamina E. Por otra parte, se sabe que las LDL contienen una gran cantidad de vitamina E, (86 y 92), estudios que indican que existe una fuerte correlación ($r = 0.77$) entre el colesterol contenido y la cantidad de α -tocoferol, mientras que otra referencia (87) indica que si las LDL se someten a condiciones oxidativas, una fase lag precede a la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados, y que durante esta fase, los antioxidantes tales como el α -tocoferol, comienzan a disminuir en su concentración dentro de estas lipoproteínas. Al incrementar la concentración de la vitamina E, se incrementa la concentración de ésta dentro de las LDL, incrementándose paralelamente la resistencia a la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados.

Esto puede dar una posible explicación de por qué no se modificaron las concentraciones de las lipoproteínas LDL y HDL en las muestras de suero de los pacientes estudiados, ya que se esperaba una disminución en las concentraciones de las LDL y un incremento en las concentraciones de las HDL bajo la acción de la vitamina E, al impedir ésta la reacción de glicación no enzimática de las apoproteínas que las constituyen.

Sin embargo, posiblemente el α -tocoferol fué consumido en la inhibición de la autooxidación de los lípidos de las lipoproteínas, principalmente ácidos grasos, y la dosis dada a los pacientes fué insuficiente para inhibir al mismo tiempo la glicación no enzimática de las proteínas del suero, así como la glicación de la hemoglobina, que como ya se ha mencionado, en el presente estudio no presentaron cambios significativos.

Con respecto a los resultados hallados correspondientes a la Apo A-I, no se registraron diferencias significativas en las concentraciones de ésta apolipoproteína durante el período de administración de vitamina E así como en el de placebo, excepto para el grupo B, en el cual se observó una disminución significativa con una $p < 0.05$.

De forma general, estos resultados concuerdan con los hallados en trabajos anteriores (90), en los que no se observaron cambios significativos en las concentraciones de apo A-I, lo que es congruente con lo observado para las concentraciones de HDL. En esta misma referencia se menciona que la administración de 900 mg/día de α -tocoferol redujo de forma significativa las concentraciones de glucosa, triglicéridos, colesterol total, LDL y la Apo B, aunque cabe señalar que los pacientes diabéticos que participaron en dicho estudio presentaban un buen control glicémico, ya que tuvieron valores normales de hemoglobina glicada (HbA_{1c}) y una concentración media de glucosa sanguínea de 148mg/dl, mientras que en el presente estudio que se realizó en el Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán, la media de los valores correspondientes a hemoglobina glicada (HbA_{1c}) fué de 11.96% \pm 0.27%, lo cual indica un pobre control glicémico.

De lo observado anteriormente, se desprende que en pacientes diabéticos con un pobre control metabólico, el efecto de la vitamina E de reducir el nivel de la glicación no enzimática de las proteínas del suero (fructosamina) no es significativo, así mismo, tampoco tiene un efecto sobre las concentraciones sanguíneas de las proteínas y de los lípidos.

CONCLUSIONES.

Bajo el diseño experimental del presente trabajo concluimos que en pacientes con un pobre control de la diabetes mellitus, el tratamiento con vitamina E no tiene efectos significativos en la concentración de la glucosa, la concentración de la glicación no enzimática de las proteínas del suero (fructosamina), los porcentajes de la hemoglobina glicada (HbA_{1c}), así como en las concentraciones de los lípidos del suero, tales como el colesterol total, el colesterol-HDL, el colesterol-LDL y triglicéridos, al igual que en las concentraciones de las proteínas evaluadas (apo A-I, apo B-100 y albúmina).

Para evitar las complicaciones crónicas de la diabetes mellitus, el control metabólico sigue siendo la principal terapia, específicamente el control de la concentración de la glucosa para reducir el estrés oxidativo al que se encuentran sometidas las proteínas del organismo del paciente diabético.

BIBLIOGRAFIA

1. Tortora, G.J. Anagnostakos, N.P. Principios de anatomía y fisiología. 3a. edición. edit. Harla. México D.F. (1984). pp: 513, 525, 635-638.
2. Memorias XI curso Panamericano para graduados "Diabetes mellitus en medicina general". Unidad de congresos del centro médico nacional del IMSS, 28 y 29 de abril de 1980.
3. Armbruster, D.A. Fructosamine: structure, analysis, and clinical usefulness. Clin. Chem. (1987) 33 (12): pp. 2153-2163.
4. Zubirán, S. Chávez, A. Estudio epidemiológico de diabetes en la ciudad de México. Rev. Invest. Clin. (1964) 161: pp. 367-383.
5. González-Villalpando, C. Stern, M.P. Villalpando, E. Hazuda, H. Haffner, S.M. y Lisci, E. Prevalencia de diabetes e intolerancia a la glucosa en una población urbana de nivel económico bajo. Rev. Inv. Clin. (1992) 44 (3): pp. 321-328.

6. Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas. Secretaría de Salud. México. (1994).
7. Stern, M. Heffner, S. Type II diabetes and its complications in mexican americans. *Diab. Metab. Rev.*(1990) 6: pp. 29-45.
8. Vázquez Robles, M. Escobedo de la Peña, J. Análisis de mortalidad por diabetes mellitus en el IMSS (1979-1987). *Rev. Med. Inst. Mex. Seguro Soc.* (1990) 28: pp. 157-170.
9. Rhos, T. J.M. Rull, R. J.A. El síndrome clínico de la diabetes mellitus, en: *Diabetes Mellitus: Complicaciones crónicas*. Editores Rull, J.A. Zorrilla H.E. Jadzinsky M.N. Santiago, J.V. Edit. Interamericana. México D.F. (1992). pp. 3-15.
10. Ióvine, E. Selva, A. *La clínica en el laboratorio*. 3a. Edición. Edit. Panamericana. Buenos Aires, Argentina. (1985). pp: 230-275.
11. Fundación mexicana para la salud. Consensos FUNSALUD. Consensos en diabetes. Clasificación y diagnóstico. México D. F. (1994). pp. 11-17.

12. Kobberlin, W. Neel, J. Berling, J. The genetics of diabetes mellitus, en:
La clinica en el laboratorio. Iovine, E. Selva, A. 3a. edición. Edit. Médica
Panamericana. Buenos Aires, Argentina.(1985). pp. 230-275.
13. Bach, J.F. Inmunología. Edit. Limusa. México, D.F. (1984). p. 832.
14. Bondy, R.K. Rosenberg, L.E. Enfermedades del metabolismo Vol. I. Edit.
Salvat. Barcelona, España.(1979). p. 245.
15. Zorrilla H, E. El proceso de aterogénesis y el papel de la diabetes mellitus
en: Diabetes mellitus: complicaciones crónicas. Editores Rull, J.A.
Zorrilla, E. Jadzinsky, M.N. Santiago, J.V. Edit. Interamericana. México.
(1992). pp. 87-106.
16. Chávez D, R. Relación epidemiológica entre lípidos y aterosclerosis en:
lípidos séricos. Editor Zorrilla H, E. 2a. edición. Edit. Interamericana
México. (1989). pp. 118-133.
17. Tertov, V.V. Orenkhov, A.N. Sobenin, I.A. Gabbasov, Z.A. Popov, E.G.
Yaroslavov, A.A. Smirnov, V.N. Three types of naturally occurring
modified lipoproteins induce intracellular lipid accumulation due to

- lipoprotein aggregation. *Circulation Research* (1992): 71 (1): pp. 218-228.
18. Lyons, T.J. Oxidized low density lipoproteins: a role in the pathogenesis of atherosclerosis in diabetes? *Diabetic Medicine*. (1991) 8: pp. 411-419.
19. Morel, Hessler, Chisolm. Low density lipoprotein cytotoxicity induced by free radical peroxidation of lipid. *J. Lipid. Res.*(1983) 24: pp.1070-1076.
20. Goldstein, Sandip, Basu, Brown. Binding site on macrophages that mediated uptake and degradation of acetylated LDL producing massive cholesterol deposition. *Proc. Natl. Acad. Sci.* (1979) 76 (1): pp. 333-337.
21. Lyons, et al. Stimulation of cholesteryl ester synthesis in human monocyte derived macrophages by LDL from type I (insulin-dependent) diabetic patients: the influence of non enzymatic glycosylation of LDL. *Diabetología* (1987) 30: pp. 916-923.

22. Lopes-Virella, et al. Glycosylation of low density lipoprotein enhances cholesteryl ester synthesis in human monocytederived macrophages. *Diabetes* (1988) 37: pp.550-557.
23. Drury, M.I. *Diabetes mellitus*. 2a. edición. Edit. Médica Panamericana. Madrid, España.(1987). pp. 1-75.
24. Zorrilla H.E. Definición y clasificación de los lípidos, en: *Lípidos Séricos: en la clínica*. Editor Zorrilla H.E. 2a. edición. Edit. Interamericana. México. (1989). pp. 3-8.
25. Lara Padilla, E. Osorio U.M.L. *Nutrición*, en: *Bioquímica e inmunología* Vol II. editores Hicks, J.J. Díaz Z.J.C. UNAM. México, D.F. (1988). p: 200.
26. Sabine, J.R. *Cholesterol*. Edit. Marcel Dekker Inc. N.Y. USA. (1977). pp: 120-123.
27. Lehninger, A.L. *Bioquímica*. 2a. edición. Edit. Omega. Barcelona, España. (1985). p. 308.

28. Gorman, L.S. Lipids and lipoproteins, en: *Clinical Chemistry: Principles, procedures, correlations*. Editores Bishop, M.L. Von Laufen, J.L. Fody, E. P. Edit. J.B. Lippicott Co. (1985), pp. 345-360.
29. Sierna P, J.C. Metabolismo de las lipoproteínas, en: *Importancia de los lípidos en la medicina contemporanea*. Editores González Barranco, J. Guadalajara Boo, J.F. Edit. Panamericana. (1990). pp. 19-50.
30. Christie, W.W. *Lipid analysis*. 2a. edición. Edit. Pargamon Press. Oxford, U.K. (1982). pp. 177-179.
31. Grundy, S.M. Vega, G.L. Role of apolipoprotein level in clinical practice. *Arch. Intern. Med.* (1990). 150. pp. 1579-1581.
32. Andrews, A.T. *Electrophoresis: theory, techniques and biochemical applications*. 2a. edición. Edit. Clarendon Press. Oxford, U.K. (1986). pp. 175.
33. Magos Lopez, C. Lipoproteínas y apoproteínas, en: *Lípidos Séricos: en la clínica*. Editores Zorrilla H, E. Edit. Interamericana. México. (1989). pp. 30-45.

34. Juárez A, J. Valores de referencia para lípidos y lipoproteínas en mujeres mexicanas en edad reproductiva. Tesis profesional. U.N.A.M. (1990). pp. 21-35.
35. Aguzzi, F. Merlini, G. Aspectos clínicos del análisis de las proteínas plasmáticas. Edit. Beckman Inc. Spana S.A. pp. 51-54.
36. Lewis, B. Low density lipoprotein. *Biochem. Soc. Sym.* (1971) 33: pp. 19-28.
37. Allen, D.W. Schroeder, W.B. Balog, J. *J. Am. Chem. Soc.* (1958) 80: p. 1628.
38. Franklin B, H. Gabbay K, H. Gallop, P.M. The glycosylation of hemoglobin: relevance to diabetes mellitus. *Science* (1978). 200: pp. 21-27.
39. Gagliardino, J.J. Glucosilación no enzimática de proteínas y complicaciones crónicas de la diabetes en: *Diabetes mellitus: complicaciones crónicas*. Editores Rull, J.A. Zorrilla H, E. Jadzinsky, M.N. Santiago, J.V. Edit. Interamericana. México (1992). pp. 59-70.

40. Franklin, B.H. Higgins, P.J. Reaction of monosaccharides with proteins: possible evolutionary significance. *Science* (1981) 213 (10): pp. 222-224.

41. Urberg, M. Rajdery, K. A correlation between serum cholesterol and glycosylated hemoglobin in non diabetic humans. *The Journal of family practice*. (1989) 28 (3): pp. 269-274.

42. Shaklain, N. Garlick, R.L. Bunn, H.F. Nonenzymatic glycosylation of human serum albumin alters its conformation and function *J. Bio. Chem.* (1984): 259. pp. 3812-3817.

43. Iberg, N. Fluckiger, R. Nonenzymatic glycosylation of albumin in vivo. *J. Biol. Chem.* (1986) 261 (29): pp. 13542-13545.

44. Daniels, B. Hauser, E. Glycation of albumin, not glomerular basement membrane, alters permeability in an in vitro model. *Diabetes* (1992) 41: pp. 1415-1421.

45. Aschner M, P. Anormalidades de las lipoproteinas en pacientes diabéticos: fisiopatología, diagnóstico y tratamiento, en: *Diabetes mellitus: complicaciones crónicas*. Editores Rull, J.A. Zorrilla H, E.

Jadzinsky, M.N. Santiago, J.U. Editorial Interamericana. México, D.F.
(1992): pp.59-69.

46. Ahumada A, M. Transporte de los lípidos séricos: metabolismo de las lipoproteínas, en: *Lípidos Séricos: en la clínica*. Editor: Zorrilla H, E. 2a edición. Edit. Interamericana. México, D.F. (1989): pp. 46-66.
47. Brown, S.M. Goldstein, J.L. The receptors model for transport of cholesterol in plasma. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* (1985): 454. pp. 178.
48. Ericsson, S. Eriksson, M. Vitols, S. Ericsson, K. Berglund, L. Angelin, B. Influence of age on the metabolism of plasma low density lipoproteins in healthy males. *J. Clin. Invest.* (1991) 87: pp. 591-596.
49. Sparrow, C.P. Doebber, T.W. Oiszewski, J. Margaret, S. Ventre, J. Stevens, K.A. Chao, Y. Low density lipoprotein is protected from oxidation and the progression of atherosclerosis is slowed in cholesterol fed rabbits by the antioxidant N-N-Diphenylphenylenediamine. *J. Clin. Invest.* (1992) 89: pp 1885-1891.

50. Means, G.E. Chang, M.K. Nonenzymatic glycosylation of proteins. Structure and function changes. *Diabetes* (1982) 31 suppl. 3: pp.1-4.
51. Brownlee, M. Vlassara, H. Cerami, A. Nonenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic complications. *Ann. Int. Med.* (1984) 101 (4): pp. 527-537.
52. Ramsay, R.C. Goetz, F.C. Sutherland, D.E. Maver, S.M. Progression of diabetic retinopathy after pancreas transplantation for insulin dependent diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* (1988) 318: pp. 204-214.
53. Solders, G. Gunnarson, R. Perssins, A. Wilzeck, H. Tydon, C. Groth, C. Effects of combined pancreatic and renal transplantation on diabetic neuropathy. A two years follow up study. *Lancet* (1987); II: pp.1232-1235.
54. Schleicher, E. Deufel, T. Wieland, O.H. Nonenzymatic glycosylation of human serum lipoproteins: elevated e-lysine glycosylated LDL in diabetic patients. *Febs letters* (1981). 129 (1): pp.14.

55. Barton D.P. Oram, J.F. Bierman, E.L. Nonenzymatic glycosylation of HDL resulting in inhibition of high-affinity binding to cultured human fibroblats. *Diabetes* (1990) 39: pp.1257-1263.
56. Patton, A.R. Hill, H.G. Inactivation of nutrients by heating with glucose. *Science* (1948) 107: pp. 68-69.
57. Calvo, C. Ponsin, G. Berthezene, F. Characterization of the nonenzymatic glucation of high density lipoprotein in diabetic patients. *Diabete and metabolisme* (1988) 14: pp. 264-269.
58. Cerami, A. Vlassara, H. Brownlee, M. Role of advanced glycosylation products in complications of diabetes. *Diabetes Care* (1988) 11 suppl. 1: pp. 73-79.
59. Brownlee, M. Cerami, A. Vlassara, H. Advanced glycosylation end products in tissue and the biochemical basis of diabetic complications. *N. Eng. J. Med.* (1988) 318 (20): pp.1315-1321.

60. Brownlee, M. Cerami, A. Vlassara, H. Advanced products of nonenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic vascular disease. *Diabetes Metabolism Reviews*. (1988) 4 (5): pp. 437-451.
61. Wolff, S.P. Dean, R.T. Glucose autooxidation and protein modification the role of "autoxidative glycosylation" in diabetes. *Biochem. J.* (1987) 245: pp. 243-250.
62. Beswick, H.T. Harding, J.J. Aldehydes or dicarbonyls in nonenzymatic glycosylation of proteins. *Biochem. J.* (1985) 226: pp. 385-389.
63. Guthrow, C.E. Morris, M.A. Day, J.F. Thorpe, S.R. Baynes, J.W. Enhanced nonenzymatic glycosylation of human serum albumin in diabetes mellitus. *Proc. Natl. Acad. Sci.* (1979) 76 (9): pp. 4258-4261.
64. Baynes, J.W. Thorpe, S.R. Murtiashaw, M.H. Non enzymatic glycosylation of lysine residues in albumin, en: *Method in enzymology: posttranslational modifications Vol 106*. Editores Wold F. Moldave. Edit. Academic Press, N.Y.(1984) pp: 88-89.

65. Murray, R.K. Granner, D.K. Maynes, P.A. Rodwell, V.W. Bioquímica de Harper Edit. El Manual Moderno. México. (1988) pp: 93-251.
66. Goodhart, R.S. Shils, M.E. La nutrición en la Salud y Enfermedad. 6a edición. Edit. Salvat Barcelona, España.(1987) pp: 106-120.
67. Salmarch, M. Labuza, T.P. Nonenzimatic browning via the Maillard reaction in foods. *Diabetes* (1982) 31 suppl. 3: pp. 29-36.
68. Ceriello, A. Giugliano, D. Quattraro, A. Dello Russo P, Torella, R. A preliminary note on inhibiting effect of α -tocopherol (vitamine E) on protein glycation. *Diabetes Metab* (1988) 14: pp. 40-42.
69. Ceriello, A. Giugliano, D. Quattraro, A., Donzella, C., Dipalo, G., Lefebvre, P. Vitamin E reduction of protein glycosylation in diabetes: New prospect for prevention of diabetic complications?. *Diabetes Care* (1991) 14 (1): pp. 68-72.
70. Davie, S.J., Gould, B.J. Judking, J.S. Effect of vitamin C on glycosylation of proteins. *Diabetes* (1992) 41: pp. 167-173.

71. Van Heyningen R., Harding, J.J. Do aspirin-like analgesics protect against cataract? *Lancet* (1986) 1: pp. 1111-1113.
72. Ceriello, A. Dello Russo, P., Curcio, F., Giugliano, D., D'Onofrio, F. Acetylsalicylic acid and lysine inhibit protein glycosylation in vitro: a preliminar report. *Diabetes Metab* (1984) 10: pp. 128-129.
73. Brownlee, M., Vlassara, H., Loozy, A., Ulrich, P. Cerami, A. Aminoguanidine prevents diabetes induced arterial wall cross-linking. *Science* (1986) 232: pp. 1629-1632.
74. Kewitz, H., Nitz, M., Gauss, J. Aspirin and cataract. *Lancet* (1986) 2: p. 689.
75. Paulisso., D'Amore., Galzerano., Balbi., Giugliano., Baricchio., D'Onofrio. Daily vitamin E supplements improve metabolic control but not insulin secretion in elderly type II diabetic patients. *Diabetes Care* (1993) 16 (11): pp. 1433-1437.

76. Todd., Sanford., Davidsohn. Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio. Tomo I. 8ava. edición. Edit. Salvat. Barcelona, España (1991) p: 1120.
77. Johnson, R.N., Metcalf, P.A., Baker, J.R. Fructosamine: a new approach to the estimation of serum glycosylprotein. An index of diabetic control. Clin. Chim. Acta (1982) 127: pp. 87-95.
78. Trinder, P. Ann. Clin. Biochem. (1969) 6: p. 24
79. Romay, Ch., Pascual, C. Nitroblue tetrazolium staining of serum fructosamine on agarose gel electrophotograms. Clin. Chem (1987) 33 (10): p. 1949.
80. Kobayashi, K., Ogasahara, N. Sakoguchi, T., Taniuchi, K., Matsuoka, A. Serum Glycated β -lipoprotein determined by agarose-gel electrophoresis with nitroblue tetrazolium Clin. Chem. (1989) 35 (1): pp. 177-178.
81. Kobayashi, K., Ogasahara, N., Sakogushi, T. Masako, K. Taniuchi, K., Matsuoka, A. Agarose gel electrophoresis with nitroblue tetrazolium

- coloration for determination of glicates lipoproteins in serum from diabetics. *Clin. Chem.* (1990) 36 (1): pp. 65-69.
82. Wolf, P.L., Williams, D., Tashiko, T., Acosta, L. Methods and techniques in clinical chemistry. Edit. John Wiley and sons. E.U. (1972) pp: 9-15, 68-74, 132-136, 156-159, 186-190, 386-388, 353-359, 393-396.
83. Aoki, Y., Yanagisawa, Y., Yasaki, K., Oguchi, H., Kiyosawa, K., Furuta, S. Protective effect of vitamin E supplementation on increased thermal stability of collagen in diabetic rats. *Diabetologia.* (1992) 35 (10): pp. 913-916.
84. Aoki, Y., Yanagisawa, Y., Yasaki, K., Oguchi, H., Kiyosawa, K., Furuta, S. No significant effect of vitamin E deficiency or supplementation on collagenlinked fluorescence in skin of diabetic rats. *Metabolism* (1992), 41 (9): pp. 1025-1027.
85. Ozden, I., Deniz, G. Ulusarac, A., Altug, T., Buyukdevrim, S. The effect of vitamin E on glycosylated hemoglobin levels in diabetic rats: a preliminary report. *Diabetes Res. Nov* (1989) 12 (3): pp. 123-124.

86. Prassat, K., Karla, J. Oxigen free radicals and hipercholesterolemic and atherosclerosis: Effect of vitamin E. *Am. Heart J.* (1993) 125 (4): pp. 958-973.
87. Esterbauer, H., Puhl, H., DieberRotheneder, M., Waeg, G. Rabl, H. Effect of antioxidants on oxidative modification of LDL. *Ann. Med.* (1991) 23 (5): pp. 573-581.
88. Urs, P., and Joseph, L. W. Glucosylation of low-density lipoproteins to an extent comparable to that seen in Diabetes slows their catabolism. *Diabetes.* Vol 33 February 1984. pp. 130-134.
89. Walker, S.N., Howie, A.F., Smith, A.F. The measurement or glycosilated albumin by reduction of alkaline nitro-blue tetrazolium. *Clin. Chem. Acta* (1986). pp. 197-206.
90. Reaven, P.D., Herold, D.A. Barrett, J., Edelman, S. Effects of vitamin E on susceptibility of low-density lipoprotein and low density lipoprotein subfraction to oxidation and on protein glycation in NIDDM. *Diabetes Care* (1995) 18: pp. 807-815.

91. Fruebis, J. Steinberg, D., Dresel, H.A., Carew, T.E. A comparison of the antiatherogenic effects of probucol and of a structural analogue of probucol in LDL receptor-deficient rabbits. *J. Clin. Invest.* (1994). 94: pp. 392-398.

92. Kokoglu, E., Ulakoglu, E. The transport of vitamini E in plasma and its correlation to plasma lipoproteins in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Res. Clin. Proct.* (1991) Dec. 14 (3): pp. 175-181.

93. Cochran, W.G., Cox, G.M. *Diseños Experimentales*. 2a.edición. Edit. Trillas. México D.F. (1991) pp. 156-159.

94. Montgomery, D.C. *Diseño y análisis de experimentos*. Grupo editorial Iberoamericana. México.(1991) pp. 139-145.

95. Arnau, L. *Diseños experimentales en psicología y educación*. Vol. I. pp. 135-141.