



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO MEXICANO DE SEGURO SOCIAL

DELEGACIÓN SUR DEL DISTRITO FEDERAL

UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI

ESTUDIO DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN DIABETES MELLITUS

TIPO 2 EN ADULTOS

Núm. de registro: R-2017-3601-133

TESIS QUE PRESENTA

DR. GILBERTO TRINIDAD PLAZA YAMASAKI

PARA OBTENER EL DIPLOMA

EN LA ESPECIALIDAD EN

MEDICINA INTERNA

ASESORES

DR. JUAN MANUEL GALLARDO MONTOYA

DRA. MARIA EUGENIA GALVAN PLATA

Facultad de Medicina



CIUDAD DE MÉXICO

FEBRERO 2018



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.

**ESTUDIO DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN DIABETES MELLITUS
TIPO 2 EN ADULTOS**



DRA. DIANA G. MÉNEZ DÍAZ

**JEFE DE LA DIVISIÓN DE EDUCACION EN SALUD
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI**



DRA. MARIA EUGENIA GALVAN PLATA

**PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN
MEDICINA INTERNA**



DR. JUAN MANUEL GALLARDO MONTOYA

**UNIDAD DE INVESTIGACIÓN MÉDICA EN ENFERMEDADES
NEFROLÓGICAS.
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES. CENTRO MÉDICO NACIONAL
"SIGLO XXI".**



Dictamen de Autorizado

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, 3601 con número de registro 17 CI 09 015 0144 en el presente
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DR. RICARDO ESPULVECA, GUJERREZ, CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI, D.F. SUR

FECHA: 09/06/2017

DR. JUAN MANUEL GALLARDO MONTOYA

PRESENTE

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

ESTUDIO DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN DIABETES MELLITUS TIPO 2 EN ADULTOS

que sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de Ética y de Investigación, por lo que el dictamen es **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro institucional:

Núm. de Registro
R-2017-3601-133

ATENTAMENTE

DR. (A) CARLOS FREDY CUEVAS GARCÍA

Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 3601

IMSS

SEGURIDAD SOCIAL Y SALUD SOCIAL

Esta tesis fue realizada en la unidad de investigación de enfermedades nefrológicas del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional siglo XXI bajo la dirección del doctor Juan Manuel Gallardo Montoya y la doctora María Eugenia Galván Plata.

Los fondos para la realización de este trabajo provinieron del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS).

AGRADECIMIENTOS

A mi esposa Yareni...

En primer lugar, quiero agradecer a mi amada compañera de vida, mil gracias por acompañarme en este proceso, por sobre todo, tu amor, tu comprensión, paciencia y fortaleza que permitieron que pudiese obtener otro éxito.

Desde el primer día vio en mi lo que nadie más pudo.

Conociendo aspectos aún desconocidos por mí.

A mi hija Naomi Sofía por ser mi fuente de inspiración y superación en la vida

Aunque en estos momentos no comprenda lo mucho que la amo

Es por lejos el mayor logro obtenido en este mundo.

A mis profesores Juan Manuel y María Eugenia...

Quienes han brindado su apoyo y sus conocimientos

Para poder lograr la elaboración de este trabajo.

A Patricia, Ricardo y David...

Quienes realizaron una ardua labor en los análisis bioquímicos de cada paciente involucrado en este estudio.

Contenido

RESUMEN	- 3 -
INTRODUCCION	- 4 -
Diabetes mellitus tipo 2.....	- 4 -
Factores de riesgo para diabetes mellitus tipo 2	- 7 -
Concepto de oxidación	- 8 -
Radicales libres	- 9 -
Antioxidantes.....	- 11 -
Estrés oxidativo.....	- 12 -
Papel del óxido nítrico en la fisiología vascular	- 14 -
Diabetes mellitus y estrés oxidativo	- 14 -
Acumulación y acción de productos de glicación avanzada	- 14 -
Incremento en la actividad de la vía del sorbitol	- 16 -
Activación de la vía de las hexosaminas.....	- 19 -
Activación de la proteína cinasa C	- 19 -
Incremento en la actividad del estrés oxidativo	- 21 -
OBJETIVO	- 27 -
Objetivos específicos.....	- 27 -
TIPO DE ESTUDIO	- 27 -
MATERIAL Y MÉTODOS	- 28 -
Consideraciones éticas	- 34 -
RESULTADOS.....	- 36 -
DISCUSIÓN.....	- 51 -
CONCLUSIONES.....	- 56 -
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	- 57 -
ANEXOS	- 63 -

1. Datos del alumno	1. Datos del alumno
Apellido Paterno Apellido materno Nombre Teléfono Universidad Facultad o escuela Carrera No. de cuenta	Plaza Yamasaki Gilberto Trinidad 55 70 27 56 30 Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Medicina 514219358
2. Datos del asesor	2. Datos del asesor
Apellido paterno Apellido materno Nombres Apellido paterno Apellido materno Nombres	Gallardo Montoya Juan Manuel Galván Plata María Eugenia
3. Datos de la tesis	3. Datos de la tesis
Titulo Subtitulo No. de páginas Año NUMERO DE REGISTRO	Estudio del estrés oxidativo en diabetes mellitus tipo 2 en adultos 74 2018 R-2017-3601-133

RESUMEN

Antecedentes: El incremento del estrés oxidativo es un contribuyente importante de la patogénesis de varias enfermedades crónicas, así como de sus complicaciones, dentro de las cuales la diabetes es la principal en cuanto a afección multisistémica.

Material y métodos: Se realizó un estudio clínico, transversal, comparativo. Se reclutaron 76 pacientes organizados en G0 (control), G1 (diabéticos controlados) y G2 (diabéticos descontrolados). Se midió la actividad de tres antioxidantes: glutatión, superóxido dismutasa y vitamina C; y tres oxidantes: óxido nítrico, productos tardíos de la glucosilación y productos tardíos de la oxidación de las proteínas. Paralelamente se obtuvieron los valores de la química clínica de rutina. El análisis estadístico de los resultados obtenidos se realizó mediante t de student o ANOVA según el caso.

Resultados: En el análisis de resultados se encontró que los niveles del óxido nítrico en el G0 fueron 16.02 ± 2.17 uM, mientras en los G1 y G2 fueron de 3.47 ± 3.81 uM y 2.89 ± 1.81 uM ($p < 0.001$). Los niveles de productos tardíos de glucosilación del G0 fueron 1.55 ± 0.35 uM, en G1 de 2.4 ± 0.83 uM y en G2 de 3.5 ± 1.25 uM, ($p < 0.01$ G0/G1 y < 0.001 en G0/G2 y G1/G2). Los niveles de productos de oxidación de proteínas en el G0 fue de 56.096 ± 19.75 uM, en el G1 de 58.31 ± 23.35 uM y en el G2 de 51.96 ± 13.1 uM, ($p > 0.05$). Los niveles de glutatión en el G0 fueron de 1.47 ± 0.71 uM, del G1 de 0.56 ± 0.21 uM y en el G2 de 0.52 ± 0.15 uM, ($p < 0.001$ G0 /G1 y G2, $p > 0.05$ G1/G2). Los niveles de superóxido dismutasa en el G0 fueron de 75.55 ± 7.76 % IDP, en el G1 de 62.27 ± 14.53 % IDP y en el G2 de 59.33 ± 10.53 % IDP, ($p < 0.001$ G0/G1 y G2, $p > 0.05$ G1/G2).

Conclusiones: La diabetes mellitus es un estado con alto nivel de estrés oxidativo. Existe una gran asociación de dichas entidades. La implementación de métodos accesibles para determinar los principales marcadores debería poder ser el complemento para iniciar un tratamiento oportuno de así considerarlo.

Palabras clave: Biomarcadores, estrés oxidativo, diabetes mellitus tipo 2, suero, adultos, sujetos sanos.

INTRODUCCION

Diabetes mellitus tipo 2

El término diabetes mellitus describe muchas enfermedades con metabolismo anormal de carbohidratos las cuales se caracterizan por hiperglucemia. Se asocia con una deficiencia absoluta o relativa de la secreción de insulina, además de diversos grados de resistencia periférica a la acción de la misma. Por ser muy heterogénea se ha clasificado por el mecanismo el cual se desarrolla. La diabetes mellitus tipo 2 (DM2), en la cual no existe una deficiencia absoluta de insulina, es la que en menor grado se ha determinado su patogénesis, siendo relacionada a factores genéticos y ambientales (1).

La Asociación Americana de Diabetes establece que la diabetes puede ser diagnosticada usando los criterios de glucosa plasmática, ya sea en ayuno o posterior a la carga oral de glucosa, o a la hemoglobina A1c. Glucosa en ayuno (8 horas) mayor o igual de 126 mg/dL; glucosa mayor de 200 mg/dL posterior a 2 horas de una carga oral con glucosa de 75 g diluida en agua; hemoglobina A1c mayor de 6.5% con un laboratorio certificado; glucosa aleatoria mayor de 200 mg/dL en un paciente con los síntomas clásicos de hiperglucemia o crisis hiperglucémica (2). Con excepción del paciente con síntomas y glucosa mayor de 200 mg/dl, es necesario realizar una segunda prueba para confirmar el diagnóstico. Se corrobora la enfermedad al contar con 2 pruebas alteradas, ya sea la misma repetida, o dos pruebas diferentes con resultados alterados.

En etapas iniciales la DM2 es una enfermedad silenciosa, ya que solo produce síntomas hasta que se encuentra en etapas o estadios avanzados, muchas veces realizándose el diagnóstico al presentar alguna de sus complicaciones.

Se estima que actualmente existen 415 millones de personas con diabetes en el mundo y que para el 2040 serán 642 millones (3). El área de Norteamérica y el caribe cuenta con la mayor prevalencia de diabetes comparada con el resto de las regiones del mundo con un 12.9% (10.8-14.3%) de la población adulta afectada (4). La mayor cantidad de pacientes con diabetes viven en áreas urbanas, de las cuales las mayores concentraciones se encuentran en Estados Unidos con 29.3 millones, México con 11.5 millones y Canadá con 2.5 millones (4). Según la Encuesta Nacional de Salud (ENSANUT) 2016 el 9.4% refirió haber recibido diagnóstico previo de diabetes por un médico, incrementando la prevalencia con respecto a ENSANUT 2012 (9.2%) y mayor que ENSANUT 2006 (7.2%) (5). De estas cifras 87.8% recibían tratamiento para controlar su enfermedad (5).

Las complicaciones relacionadas con la diabetes pueden clasificarse por el tiempo de aparición en agudas y crónicas, y estas últimas en macrovasculares y microvasculares. Dentro de las complicaciones agudas se encuentran las relacionadas al mal control glucémico, llevando a las crisis hiperglucémicas (cetoacidosis y estado hiperosmolar) o por el contrario a la hipoglucemia, encontrándose en espectros desde asintomáticos hasta el coma y muerte.

En las complicaciones crónicas, la enfermedad cardiovascular es la causa más común de muerte e incapacidad entre las personas con diabetes. Las enfermedades cardiovasculares comúnmente asociadas se incluyen la angina de pecho, infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, enfermedad arterial periférica y la insuficiencia cardíaca congestiva.

Dentro de las complicaciones microvasculares podemos englobar a la retinopatía, nefropatía, neuropatía y el pie diabético. Muchas personas con diabetes desarrollan alguna forma de retinopatía, la cual puede ir del espectro de alteración de la agudeza visual hasta la ceguera. La red de vasos sanguíneos retinianos pueden dañarse, dando lugar a pérdida permanente de la visión. Puede llegar a ser tan avanzada antes de afectar la visión, y por ello es crucial el examen regular.

La nefropatía es mucho más común en personas con diabetes que en los que no la presentan; siendo una de las principales causas de enfermedad renal crónica. Esta es causada por el daño a la microvasculatura, haciendo a los riñones menos eficientes para el filtrado glomerular, llegando hasta la pérdida de la función.

La neuropatía es resultado de niveles elevados de glucosa en el cuerpo de manera prolongada, llegando a afectar cualquier nervio en el cuerpo. El tipo más común es la neuropatía periférica, principalmente a nivel sensorial de los pies. Se caracteriza porque sintomáticamente produce dolor, parestesias y pérdida de la sensibilidad; esto último siendo importante porque permite que las

lesiones pasen desapercibidas, llevando a la ulceración infecciones graves e incluso a las amputaciones. La neuropatía además afecta a órganos sexuales y vísceras, llevando a la disfunción eréctil, problemas en la digestión y micción.

En el caso del pie diabético además del daño neurológico, se cuenta con un mal lecho vascular, por lo que se aumenta el riesgo de ulceración, infección y amputación. Las personas con diabetes tienen un riesgo de amputación 25 veces mayor que las personas sin diabetes. Es importante la revisión frecuente de los pies para evitar dicha complicación.

Considerando lo anterior, se considera que el estrés oxidativo juega un papel fundamental en la presencia de complicaciones de la DM2, por lo que una modificación del mismo podría significar cambios en la progresión de la enfermedad.

Factores de riesgo para diabetes mellitus tipo 2

Como la DM2 es un trastorno heterogéneo se han determinado diversos factores con mayor o menor importancia para desarrollar la enfermedad, entre lo que destacan los siguientes:

Factor de riesgo	Impacto
Historia familiar	Dos a tres veces más riesgo con un familiar de primer grado. De 5 a 6 veces con ambas líneas paterna y materna (6).
Raza étnica	Asiáticos (RR 2.26), hispanos (RR 1.86), afroamericanos (RR 1.34) (7).
Obesidad	Incremento de 50% de prevalencia en hombres y 100% en mujeres (8).
Distribución de la grasa corporal	Asociado con distribución central o andrógina (9).
Peso al nacimiento	Distribución en forma de U (10).

Estilo de vida	Disminución de riesgo con actividad física, dieta, consumo de alcohol o tabaquismo, duración del sueño (11).
Patrón dietético	Incremento con carnes rojas, alimentos procesados y bebidas azucaradas; disminución con frutas, vegetales, granos y aceite de oliva (12).
Exposición ambiental	Exposición crónica a arsénico (RM 3.58); bisfenol, policarbonatos y resinas (RM 1.39); organofosforados y pesticidas clorados (RM 1.17) (13).

RR: riesgo relativo; RM: razón de momios

Concepto de oxidación

Los elementos que tienden a ceder electrones fácilmente y a oxidarse se les conoce como agentes reductores, mientras los que reciben electrones y se reducen se les llama agentes oxidantes, el conjunto de un oxidante y un reductor se le conoce como sistema redox.

La mayor parte de las reacciones redox se llevan a cabo en compartimientos especiales dentro de las células como membranas lipídicas, sin embargo ni los lípidos, proteínas o carbohidratos pueden recibir un electrón, sin embargo existen estructuras no proteínicas que se asocian con proteínas de manera covalente o no, que se conocen como grupos prostéticos capaces de recibir electrones sin convertirse en radicales libres. Un ejemplo de estos grupos son el hierro y el cobre.

A pesar de estas precauciones el hecho de que se estén transfiriendo electrones constantemente pudiera existir una fuga en el sistema y generar radicales libres (14).

Radicales libres

La historia de los radicales libres como intermediarios reactivos inicia desde 1900 con los experimentos de Gomberg (14), sin embargo hasta 1960-69 Fridovich y McCord descubrieron una enzima que eliminaba radicales libres a nivel fisiológico, años más tarde la comunidad científica reconoció su trabajo, y actualmente se sabe que esa enzima es la superóxido dismutasa (SOD) que interviene en la eliminación del radical superóxido ($O_2^{\bullet -}$)(14).

En un inicio se pensaba que los radicales libres eran puramente dañinos pues se asociaban a una gran cantidad de patologías como el cáncer, diabetes, fibrosis, alteraciones cardíacas, neurológicas, renales, etc. Actualmente se sabe que los radicales libres y el estrés oxidativo juegan un papel esencial como segundos mensajeros y forman parte de las vías de señalización en los procesos de proliferación y diferenciación celular. Todo esto ha llevado a una serie de investigación con el fin de entender los efectos de los radicales libres en el metabolismo normal y patológico (14).

La mayoría de los compuestos que forman a los seres vivos están compuestos de carbono (C), hidrógeno (H), oxígeno (O) y nitrógeno (N). Todos son no metales y se encuentran unidos por enlaces covalentes. Para mantenerse estables requieren 8 electrones (e^-) en su último nivel de energía y que éstos se encuentren en pares. Para poder llegar a este nivel de estabilidad los elementos se unen y comparten electrones, a esto se le conoce como enlace covalente. Estos enlaces son sumamente estables. El rompimiento del enlace

puede ser de dos tipos: heterolítico u homolítico. En el primero la separación implica que un átomo o molécula se quede con el par de electrones completo y el otro se quede sin nada, al adjuntarse un electrón de más adquiere carga negativa (anión) y al perderlo positiva (catión). En el segundo al romperse cada una de las moléculas conserva su electrón lo que indica que ninguna tendrá pareja, esto genera moléculas muy inestables conocidas como radicales libres (14).

Un radical libre (RL) se puede definir como cualquier especie atómica o molecular con uno o más electrones desapareados. Su reactividad depende del tipo de radical del que se trate, así como de la molécula con la cual reaccione.

Si dos RL se encuentran pueden unir sus electrones desapareados formando de nuevo un enlace covalente. Si los dos RL son la misma especie química se produce una reacción de dismutación. Si el RL se une a una molécula que no es un radical se logra estabilizar sin embargo seguirá teniendo un electrón desapareado dentro de la molécula generando un nuevo radical libre, a esto se le conoce como reacción en cadena de los radicales libres y ocurre de varias maneras (14):

1.- Un RL puede ser un agente reductor: cuando dona su electrón desapareado a una molécula no radical, la molécula receptora se convierte en un RL pero al mismo tiempo en un anión ya que tendrá un electrón de más.

2.- Un RL puede ser una agente oxidante cuando acepta un electrón de una molécula no radical, la molécula que dona quedará con un electrón desapareado por lo que se convertirá en radical libre.

Pueden existir muchos radicales libres sin embargo para las ciencias que estudian a los seres vivos, los más importantes son los que se forman con el oxígeno y el nitrógeno, mismos a los que se les conoce como especies reactivas de oxígeno (ERO) y especies reactivas de nitrógeno (ERN) respectivamente, ya que ambas involucran al oxígeno es importante entender la química de éste (14).

Antioxidantes

El organismo cuenta con sistemas antioxidantes para contrarrestar el efecto de las ERO. Se dividen en antioxidantes de tipo enzimático como la SOD, la catalasa (CAT), la glutatión peroxidasa (GPx) y las tioredoxinas, las cuales son producidas por el organismo y otras no enzimáticas que se adquieren en la dieta como las vitaminas en particular la E (α-tocoferol), vitamina C (ácido ascórbico) y la vitamina A (B-caroteno) y el tripéptido glutatión (GSH) (14).

Existen sistemas antioxidantes endógenos y exógenos, que limitan la actividad y la producción de las ERO y mantienen el sistema bajo control. Los sistemas antioxidantes endógenos más importantes son las enzimas SOD, CAT y GPx; el sistema del glutatión como antioxidante, está constituido por el glutatión reducido y por la actividad de la enzima glutatión reductasa que se encarga de

reducir sistemáticamente el glutatión oxidado; la transferrina y la ceruloplasmina se consideran proteínas antioxidantes. Como antioxidantes exógenos señalar las vitaminas A, C y E y algunos metales como el cobre y el selenio, este último al actuar como cofactor de la enzima GPx. La producción de ERO está aumentada en condiciones tales como la inflamación, la hiperoxia, la secuencia de isquemia-reperfusión, el metabolismo de algunas drogas y la exposición a radiaciones (15).

El antioxidante no enzimático más activo es el GSH el cual puede destruir H_2O_2 , OH^- y oxidantes clorinados.

La vitamina E protege a la membrana celular de la peroxidación lipídica formando radicales tocoferoxil de baja reactividad. La vitamina C destruye O_2^- y OH^- . Proteínas de inflamación como ferritina, transferrina y albúmina tienen un efecto antioxidante no enzimático secuestrando la transición de hierro (16).

Estrés oxidativo

El estrés oxidativo es una perturbación del equilibrio entre la producción de radicales libres y defensas antioxidantes. Este desequilibrio puede conducir a oxidación de biomoléculas y en consecuencia a modificaciones funcionales y estructurales de estas moléculas (17-19); La citocromo oxidasa, así como el citocromo P450, representan la producción de ~ 90% del oxígeno metabolizado en las células de los mamíferos. La fosfato nicotinamida adenina dinucleótido (NADPH) oxidasa es otra importante fuente de oxidantes, y genera EROs en

fagocitos y células endoteliales. Los fagocitos pueden utilizar elevados niveles de oxígeno para producir EROs como mecanismo de defensa del hospedero contra la invasión de agentes patógenos.

Las enzimas implicadas en este estallido respiratorio incluyen a la NADPH oxidasa, la SOD, la óxido nítrico sintasa (NOS), y la mieloperoxidasa (14). El más potente de los EROs, el anión superóxido ($O_2^{\bullet -}$), se metaboliza por la SOD a peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y, a continuación, se convierte en un reactivo altamente nocivo el radical hidroxilo (OH^{\bullet}). El superóxido, también reacciona con el óxido nítrico (NO_x) para producir peroxinitrito ($ONOO^-$). El peróxido y el cloruro (Cl^-) se metabolizan por la mieloperoxidasa a ácido hipocloroso ($HOCl$) en los fagocitos activados (14).

En la actualidad, se han identificado: cuatro diferentes vías de estrés oxidativo (i) la clásica de estrés oxidativo, (ii) estrés oxidativo clorinado, (iii) estrés nitrosativo, y (iv) estrés carbonilo.

El estrés oxidativo tiene consecuencias positivas y negativas en los seres humanos sanos. Por el lado positivo el estrés oxidativo es un componente importante de varios mecanismos de defensa del huésped, tales como la hidrólisis de microorganismos invasores y desnaturalización de antígenos extraños. En el lado negativo, el estrés oxidativo es nocivo debido al daño que produce en las células y tejidos. Estas lesiones son producidas principalmente por la acción de la lipoperoxidación en las membranas, oxidación de las

proteínas o del ácido desoxirribonucleico (ADN), y disrupción en la función de las citocinas y el sistema del NOx.

Papel del óxido nítrico en la fisiología vascular

El NOx ejerce múltiples efectos antiaterogénicos: vasodilatación, inhibición de agregación plaquetaria, inhibición de la proliferación de la fibra muscular lisa y disminución de la producción de proteína quimiotáctica de monocitos (MCP), entre otros (20,21). La abundancia de NOx depende, fundamentalmente, de su síntesis por las diversas isoformas de la NOS y de su destrucción por EROs como el anión superóxido (O_2^-). La combinación O_2^- y NOx produce peroxinitrito ($ONOO^-$), potente agente oxidante que reacciona con residuos de tirosina de las proteínas, produciéndose nitrotirosina que sirve como marcador de la inactivación de ON por EROs (22).

Diabetes mellitus y estrés oxidativo

Acumulación y acción de productos de glicación avanzada

Este proceso se inicia con la reacción de los grupos carbonilos de los carbohidratos con los grupos amino de las proteínas, en especial con el amino terminal y el ϵ -amino de residuos de lisina, dando origen a los productos tempranos de glicación, también llamados de Amadori o fructosamina. A partir de ellos y por cambios o transposiciones moleculares y oxidaciones, se forman compuestos α -dicarbonilos (α -oxoaldehídos) como la 3-desoxiglucosona (23),

el metilglioxal y el glioxal, los que son conocidos como precursores de los AGEs; éstos son más reactivos que sus predecesores y al combinarse simultáneamente con dos grupos reactivos de las proteínas, forman puentes cruzados entre ellas muy estables; produciendo su agregación, y pérdida en sus funciones biológicas. Las proteínas ricas en aminoácidos básicos (L-lisina y L-arginina) son especialmente susceptibles a la glicación (23).

Los AGEs son compuestos muy variados estructuralmente, entre otros podemos encontrar a la hidroximidazolona, puentes cruzados de bis(lisina)imidazolio, derivados de monolisina (N-ε-(carboximetil)-lisina), argipirimidina y pentosidina.

Las proteínas modificadas por los AGEs pueden encontrarse en el plasma, en el compartimiento intracelular y en la matriz extracelular; especialmente en la pared arterial, el mesangio glomerular, las membranas basales glomerulares, los vasos capilares sanguíneos, la vasculatura retiniana, el cristalino, el perineurium y las fibras nerviosas mielínicas y amielínicas (23).

Se han descrito receptores para los AGEs en numerosas células, incluyendo a los monocitos, a los macrófagos, a las células endoteliales, a las células mesangiales, a los pericitos, a los podocitos, a las neuronas periféricas y a la microglía. Las proteínas glicadas que se unen a estos receptores inducen diversos eventos como la producción de ERO, estado proinflamatorio; proliferación de células (como los macrófagos) y las del endotelio y músculo liso arterial; la activación de factores de transcripción como el NFκB; así como

la expresión de diversos péptidos y proteínas (incluyendo a factores de crecimiento, citocinas, proteínas de matriz extracelular y PAI-1). En los macrófagos estimulan la producción de la interleucina-1, el factor de crecimiento-1, el factor de crecimiento tumoral α y el factor estimulante de colonias de granulocitos (IL-1, GF-1, TNF α y GC-SF, respectivamente, por sus siglas en inglés), en tanto en los glomérulos inducen el aumento de la síntesis de la colágeno tipo IV. La formación de los AGEs en los ácidos nucleicos puede producir efectos dañinos en la proliferación celular y en la expresión génica (23).

Incremento en la actividad de la vía del sorbitol

También conocida como la vía de los polioles, se lleva a cabo principalmente en órganos que no requieren insulina para metabolizar la glucosa. La glucosa es transformada por la acción secuencial de dos enzimas: la aldosa reductasa (AR) y la sorbitol deshidrogenasa (SDH). La primera es la responsable de la reducción irreversible de la glucosa en sorbitol y requiere como coenzima a la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido (NADPH). Esta enzima controla la vía, y se activa al estar en contacto con altos niveles de glucosa. Debido a lo anterior aumenta la concentración de sorbitol y disminuye la disponibilidad de NADPH. La SDH, cataliza la transformación del sorbitol en fructosa con la concomitante formación de nicotinamida adenina dinucleótido reducido (NADH). Esta reacción es el punto crítico de la vía, con repercusión en las complicaciones diabéticas, tanto por la acumulación de los productos formados (NADH y fructosa), como por su reversibilidad (24).

La caída en la concentración de NADPH afecta negativamente la actividad de otras enzimas que también lo requieren, como la NOS, la glutatión reductasa (GR), la catalasa y la NADPH oxidasa. Algunas de ellas participan en los mecanismos antioxidantes; por lo tanto, el agotamiento de NADPH explicaría, en parte, la deficiencia de los sistemas antioxidantes en el paciente diabético como el dependiente del glutatión y de la catalasa.

Por otra parte la transformación bioquímica de la fructosa que afecta al organismo inicia en la mayoría de los tejidos con su fosforilación por una hexocinasa específica, dando lugar a la fructosa-6-fosfato que se metaboliza en la ruta glucolítica. La oxidación del gliceraldehído-3-fosfato (G3P) catalizada por la enzima gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (G3PDH) es de las reacciones más importantes de la glucólisis, porque en ella se forma el primer intermediario de alta energía y un par de equivalentes reductores en forma de NADH (24).

El acoplamiento entre la glucólisis y la vía del sorbitol conduce a diversas alteraciones metabólicas, entre ellas:

a) Acumulación de intermediarios de la glucólisis, principalmente el G3P y la dihidroxiacetona fosfato (DHAP), ambos altamente reactivos con la capacidad de glicar proteínas y generar estrés oxidativo.

b) Aumento de la relación NADH/NAD⁺. El aumento de esta relación se explica por dos mecanismos: por la actividad de la segunda enzima de la vía del sorbitol (SDH) y el desequilibrio entre la velocidad de oxidación del G3P a 1,3 bis-fosfo-glicerato (1,3BPG) y la velocidad de reducción del piruvato a lactato. Durante la hiperglucemia se favorece la producción de NADH más que su consumo (24).

c) Inhibición de la G3PDH. Cuando la concentración intracelular de la glucosa es alta su actividad es inhibida, condicionando la acumulación de triosas de fosfato. Los mecanismos por lo que esto ocurre son por: aumento en su degradación, oxidación de sus grupos tiol (SH) necesarios para su actividad, disminución de su expresión debido a la reducción de insulina (transcripción del gen), acumulación de aldehídos que inhiben a la enzima, decremento de NAD⁺ necesario para que actúe, y glicación de la enzima (25).

El sorbitol, la glicerofosforilcolina y el inositol (polioles) pertenecen al grupo de solutos orgánicos, por lo que tienden a acumularse en una gran variedad de organismos expuestos a un ambiente alto en sales. La acumulación de sorbitol debido a su incapacidad para difundir con facilidad al exterior, conduce a un aumento de estrés osmótico en las células, especialmente importante para explicar el daño a nivel de cristalino, con posterior formación de cataratas (26).

La acumulación de sorbitol no es suficiente para explicar el origen de la neuropatía, retinopatía y nefropatía diabéticas, porque la concentración de sorbitol en estos órganos es mucho menor que la observada en los cristalinos,

a menos que la acumulación del sorbitol sea muy alta en pequeños compartimientos de estas células.

Activación de la vía de las hexosaminas

La fructosa vía sorbitol contribuye en la activación de la vía de las hexosaminas, debido a que la formación de la glucosamina-6-fosfato proviene exclusivamente de la fructosa-6-fosfato y la glutamina, mediante una reacción irreversible catalizada por la glutamina: fructosa-6-fosfato amidotransferasa (GFA), enzima que regula la vía. La glucosamina-6-fosfato da origen a la UDP-N-acetilglucosamina y a la UDP-N-acetilgalactosamina, que se utilizan en la formación de las glicoproteínas y los proteoglicanos.

El aumento del flujo a través de esta vía está relacionado con algunos efectos de la diabetes, contribuye en parte a la estimulación de la expresión de genes como los del TGF α , TGF β 150, y del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1). También participa en la inducción de la resistencia a la insulina por lípidos o por hiperglucemia.

Activación de la proteína cinasa C

La acumulación de DHAP y G3P promueve la producción de diacilgliceroles (DAG), y la subsecuente activación de la proteína cinasa C (PKC), mismos que también afectan la homeostasis vascular. La PKC pertenece a la familia de las serinas/treoninas fosfocinasas, y presenta por lo menos 11 isoformas (α , β 1,

β_2 , γ , δ , ϵ , ζ , η , θ , λ y μ), codificadas por 10 genes diferentes. Estas proteínas se clasifican en cuatro clases: las convencionales o clásicas (α , β_1 , β_2 y γ), las dependientes de Ca^{2+} y fosfolípidos; las nuevas isoformas independientes de Ca^{2+} (ϕ , ϵ , η , θ , μ) las atípicas (ζ y λ) y las independientes de Ca^{2+} y fosfolípidos (μ).

El DAG es un activador natural de la PKC y su producción aumenta en las células del endotelio, la retina y los glomérulos renales durante las complicaciones diabéticas en modelos animales y en el humano (27).

Otros posibles activadores de la PKC son el metilglioxal, la glucosamina, y las ERO. Todos ellos se generan debido a alteraciones metabólicas que se presentan en la diabetes.

Las alteraciones celulares y funcionales atribuidas a la activación de la PKC son muy variadas, y dependen de la función de esta enzima en los mecanismos de transducción de señales y en su participación en la regulación de la expresión de diversos genes, incluyendo a los de proteínas de matriz extracelular (fibronectina y colágeno tipo IV), del PAI-1 y del $\text{TGF}\beta$ y su receptor. Afecta la producción de sustancias vasoactivas, por una parte deprime la producción de óxido nítrico y por otra estimula la expresión de la ET-1 (28), lo que conduce a la disminución del flujo sanguíneo de la retina, los nervios periféricos y el riñón, en el modelo de diabetes experimental.

En la retina, el decremento del flujo sanguíneo puede llevar a una hipoxia local, que induce la expresión del VEGF, que a su vez aumenta la permeabilidad del endotelio y la formación de microaneurismas.

Incremento en la actividad del estrés oxidativo

El estrés oxidativo está fuertemente implicado como un mediador de múltiples complicaciones microvasculares inducidas por diabetes, incluyendo nefropatía, retinopatía y polineuropatía. Los mediadores clave que se han identificado como daño por estrés oxidativo son los aniones superóxido y el óxido nítrico.

Las proteínas son blanco de daño mediado por factores oxidativos, como consecuencias producen productos resistentes a la proteólisis. Sin embargo aún no se han encontrado marcadores de oxidación. Cuando los componentes oxidativos interactúan con los ácidos nucleicos contribuye a la mutagénesis y oncogénesis. La determinación de 8-hidroxi 2 cromatografía (8OHdG) se utiliza para evaluar el daño del ADN de los leucocitos (16).

Las EROs producen lipoperoxidación de las membranas y organelos celulares generando daño de la integridad celular y alteración de la capacidad de transporte celular y la producción de energía. Además existe daño microvascular principalmente mediado por citoquinas del tipo proinflamatorias y lesiones morfológicas con alteración de la permeabilidad y la hemodinamia vascular (29).

Se ha propuesto que el estrés oxidativo está involucrado en varios estados patológicos como enfermedades cardiovasculares, infecciosas, cáncer, diabetes y trastornos neurodegenerativos (29,30). Esto podría constituir una evidencia que apunta hacia la probable existencia de un aumento de la exposición a estrés oxidativo en el curso de un deterioro micro y macrovascular crónico.

Se ha demostrado en pacientes con diabetes la acumulación de sustancias de naturaleza prooxidante en sangre y otros tejidos. Estos incluyen la homocisteína capaz de generar H_2O_2 durante su metabolismo (31), la carboximetil-lisina y la pentosidina. Estos compuestos se producen como consecuencia de la glucosilación y autoxidación de carbohidratos, lípidos y proteínas. Estos a su vez pueden provocar la activación de leucocitos polimorfonucleares neutrófilos y macrófagos capaces de generar grandes cantidades de ERO (32).

Las ERO contribuyen a la resistencia a la insulina, debido a que interfiere con las vías de señalización inducida por esta hormona y evitan la traslocación del transportador de glucosa GLUT 4 a la membrana plasmática. El mecanismo por el que contribuyen a las complicaciones de la diabetes es parcialmente conocido y se piensa que actúan por la modificación oxidativa de macromoléculas y por la activación del factor de transcripción NFkB, lo que conduce a la expresión alterada de genes (33).

Aún queda la interrogante si este estado de oxidación se debe a una causa de las complicaciones o como consecuencia del estado de descontrol de paciente.

Ensayos clínicos con roedores que incluían vitamina E, C y ácido alfa lipoico han tenido resultados limitados en mejorar desenlaces cardiovasculares. Las estatinas, los inhibidores de enzima convertidora de angiotensina, los bloqueadores de receptores de angiotensina y las tiazolidinedionas pueden mejorar los desenlaces cardiovasculares reduciendo las especies reactivas de oxígeno por una parte más proximal de la cascada, por lo que actuarían de una forma más eficiente (34).

A pesar de la gran evidencia que el estrés oxidativo se ha asociado a complicaciones diabéticas, los ensayos clínicos de muchos antioxidantes (como inhibidores de aldol reductasa, ácido alfa lipoico, vitaminas C, E y factores de crecimiento) en neuropatía y retinopatía diabéticas, no han establecido una eficacia terapéutica (35). Estudios realizados en población mexicana con antioxidantes como ácido fólico (36) o restricción dietética de productos avanzados de la glicosilación (37), han mostrado reducción en marcadores de estrés oxidativo.

Durante las crisis hiperglucémicas se han observado elevación de citosinas proinflamatorias incluyendo factor de necrosis tumoral alfa e interleucinas 1B, IL-6 e IL-8, marcadores de peroxidación lipídica así como inhibidor de activador de plasminógeno 1 y proteína C reactiva (38). Los factores proinflamatorios regresan a la normalidad dentro de las 24 horas en que se ha iniciado terapia

con insulina y resolución de la hiperglucemia. Las prostaglandinas y eicosanoides se han asociado en la patogénesis de la diabetes mellitus y sus complicaciones. Las prostaglandinas se acumulan durante la cetoacidosis, incrementan en la circulación antes de la epinefrina y regresan pronto a niveles normales con la terapia con insulina (39).

En estos últimos años el estrés oxidativo se ha señalado como un importante mediador patológico en muchas y muy diversas situaciones clínicas como la carcinogénesis, arteriosclerosis, enfermedades cardiovasculares y HTA, enfermedades neurodegenerativas y envejecimiento (40). Además se han propuesto a estos como biomarcadores en relación a factor de riesgo cardiovascular (41) o como predictor de riesgo de desarrollo de síndrome metabólico (42).

A nivel mundial se han realizado muchos estudios para poder predecir si ciertos individuos cuentan con mayor riesgo a desarrollar complicaciones de acuerdo a sus niveles de estrés oxidativo. Butkowski et al (43) en un estudio transversal realizado en Australia, encontró que en individuos con elevaciones en los niveles de glucosa incrementaba su respuesta con marcadores de inflamación y estrés oxidativo, separando en quintiles con puntos de corte de 4.5, 4.7, 6.1 y 7.5 mmol/l de glucosa sérica.

En nuestro país no hemos localizado en la literatura estudios de esta índole, aunque se sabe mucho sobre estrés oxidativo y su relación con la diabetes, es necesario relacionar si se trata de un aspecto directamente proporcional o

incluso en un futuro y desde un enfoque de seguimiento determinar si puede utilizarse estos marcadores como predictores en el desarrollo de la enfermedad o de sus complicaciones.

Se ha evidenciado que el estrés oxidativo está involucrado en varios estados patológicos como enfermedades cardiovasculares, infecciosas, cáncer, metabólicas, renales y trastornos neurodegenerativos. Estas enfermedades tienen un gran impacto en la calidad de vida y sobre todo al aparecer con mayor frecuencia en población económicamente activa. Cuando se analizan los mecanismos fisiopatológicos de las complicaciones de la DM2 se encuentra al estrés oxidativo como un proceso central en su desarrollo. Así también en las complicaciones agudas como la cetoacidosis y el estado hiperosmolar se ha observado una liberación masiva de marcadores de estrés oxidativo e inflamación los cuales mejoran al controlar la descompensación.

Ya que el EO aparece en las células y tejidos cuando existe una perturbación del equilibrio entre las sustancias pro-oxidantes y antioxidantes a favor de las primeras y las principales sustancias oxidantes en los sistemas biológicos son los radicales libres derivados del oxígeno estamos interesados en estudiar los cambios sérico en la composición bioquímica de los marcadores de antioxidación y oxidación en pacientes que viven con diabetes en los diferentes niveles de control glucémico.

Dado que los pacientes que viven con DM2 están afectados tanto por los cambios bioquímicos generales así como la glucotoxicidad, y las alteraciones

de los varios mecanismos implicados en el incremento del estrés oxidativo en la diabetes mellitus, entre los cuales se encuentran: la autooxidación de la glucosa, la glucosilación de proteínas, y la disminución de las defensas antioxidantes, se hace necesario conocer si el diabético controlado tiene o no igual de alterados los niveles plasmáticos de los marcadores antioxidativos y marcadores de estrés oxidativo durante las distintos niveles de control de la diabetes mellitus tipo 2 en adultos.

Por lo anterior consideramos que los marcadores de estrés oxidativo se encontrarán incrementados en la diabetes mellitus tipo 2 del adulto conforme se modifiquen los niveles de control glucémico y su severidad podría estar directamente relacionada con la progresión y/o de la presencia de complicaciones en adultos versus los individuos aparentemente sanos.

OBJETIVO

Conocer los posibles cambios en el estado antioxidante inducidos por la DM2 en sus diferentes niveles de control así como en un grupo de sujetos sanos. Es posible que los biomarcadores de estrés oxidativo y antioxidativo sean de utilidad para estimar el riesgo de presentar complicaciones agudas o crónicas.

Objetivos específicos

- 1.- Determinar las concentraciones de antioxidantes en suero (Vitamina C, SOD, y glutatión total) en grupo de control glucémico, descontrol y en los sujetos del grupo testigo.
- 2.- Determinar las concentraciones de oxidantes en suero (NOx, AGEs y AOPPs) en los grupos de control glucémico y en sujetos del grupo testigo.

TIPO DE ESTUDIO

Se realizó un estudio clínico, transversal, comparativo en pacientes que viven con diabetes en diferente control de su enfermedad de nuestra unidad hospitalaria.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron pacientes de ambos géneros mayores de 18 años de edad, menores de 70 años de edad, con diabetes mellitus tipo 2 con o sin tratamiento con insulina, de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Especialidades “Dr. Bernardo Sepúlveda Gutiérrez”.

Los grupos se establecieron de la siguiente manera. G0= Sujetos aparentemente sanos, G1 = Sujetos con Dx de DM2 con hemoglobina glucosilada menor o igual a 7.5%, G2 = Sujetos con Dx de DM2 con hemoglobina glucosilada mayor a 7.5%. Todos ellos provenientes de áreas urbanas del área de influencia del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional “Siglo XXI”.

Como variables independientes principales se incluyeron la presencia o ausencia de diabetes mellitus tipo 2 así como presencia de control glucémico. El empleo de insulino terapia u otros hipoglucemiantes se incluyeron como variables secundarias.

Las variables dependientes incluyeron niveles plasmáticos de los diferentes antioxidantes y oxidantes. Como covariables se estipularon: la enfermedad renal crónica KDIGO 1, 2, 3A, hipertensión arterial sistémica, dislipidemia, síndrome metabólico y obesidad.

En la selección de participantes se incluyeron sujetos de 18 a 70 años de edad, los grupos fueron pareados por edad y sexo. Para el grupo de diabetes se clasificaron como controlados si contaban con niveles de hemoglobina glucosilada menor de 7.5% y no controlados si contaban con niveles superiores a este punto de corte. La determinación del control glucémico se realizó con las técnicas estandarizadas del laboratorio de la institución. Para grupo testigo se consideró sin antecedentes personales de enfermedades crónicas degenerativas, metabólicas o neoplasias; sin consumo de medicamentos, drogas de abuso ni complementos alimentarios (de ninguna naturaleza). Se excluyeron a pacientes con otras enfermedades crónicas concomitantes con la diabetes (cáncer, enfermedad neurológica, enfermedad pulmonar, enfermedad metabólica endocrina no diabética, enfermedad renal en estadios avanzados (>3B) o padecimientos autoinmunes). Se eliminaron a participantes que una vez iniciado el estudio decidieron abandonar por cualquier motivo.

Para la toma de muestras se solicitó que acudieran en ayuno de al menos 10 horas. Las muestras de sangre fueron obtenidas mediante la punción de una vena del antebrazo y colectada en tubos de ensayo estériles (Vacutainer Becton Dickinson Immunocytometry Sistemas-EDIBs, EE.UU.). Todas las muestras fueron transportadas en un termo con hielo y una vez recuperado el suero, este se alicató en tubos de 0.6 mL y almacenado a -20°C.

Para los análisis bioquímicos se realizaron análisis de rutina para todos los casos como biometría hemática completa así como química sanguínea de los siguientes analíticos: glucosa, ácido úrico (AU), creatinina (CR), colesterol,

triglicéridos (TG), lipoproteínas de alta densidad (HDL), albumina (ALB) y proteínas reactiva C (PCR) todas estas mediciones se realizaron en el laboratorio central del Hospital de Especialidades CMN "Siglo XXI", utilizando estuches de diagnóstico comerciales y medidos en equipos automatizados.

Se determinó la actividad de varias sustancias relacionadas con el estrés oxidativo. Como sustancias AOx medimos Vitamina C (Vit C), superóxido dismutasa (SOD), glutatión total (GSH), y ácido úrico (AU). Como oxidantes medimos el óxido nítrico (NOx), los productos tardíos de la glucosilación (AGEs) y productos tardíos de la oxidación de las proteínas (AOPP). Como moléculas estables medimos las proteínas totales (PT) y la glucosa (GLU), en el suero de todos los participantes.

La medición de NOx se realizó mediante la determinación de la cantidad total de nitritos (NO₂⁻), que son los productos estables del metabolismo de NO. Se utilizó el reactivo de Griess (solución acuosa de sulfanilamida al 1% y naftilenetilendiamina al 0.1% en H₃PO₄ (al 2.5%, JT Baker), el cual forma un cromóforo estable con NO₂⁻, y que absorbe a 546 nm. La curva de calibración se hizo con diferentes concentraciones de nitrito de sodio disuelto en NaCl al 0.9% (45,46).

Para la determinación de AGEs, utilizamos el procedimiento fluorescente AGEs, usando una placa negra de 96 pozos y un fluorómetro (Fluoroskan acent FL Thermon). Se usaron 100 µL of plasma desproteinizado con TCA a la concentración de 0.3 g/L. Posteriormente añadimos 200 µL cloroformo, se agitó

y centrifugó a 14,000 rpm por 5 min. Finalmente a 200 μ L del sobrenadante se colocó en la multiplaca por triplicado y se leyó la intensidad de fluorescencia a 355 nm EM y 440 nm EX. Los resultados se expresaron en unidades arbitrarias de fluorescencia (UAF) corregida por la cantidad de proteínas plasmáticas (medidas por absorbencia a 280 nm) para muestras plasmáticas. Para asegurarnos de que las lecturas del fotofluorometro son adecuadas, se corrigió una curva de calibración con sulfato de quinina como estándar, el cual utiliza los mismos filtros de EX y EM descritos arriba (360 y 440 nm respectivamente).

La medición de los productos tardíos de la oxidación de proteínas se llevó a cabo usando un método semiautomatizado descrito por Witko y cols (47). En resumen, los AOPPs se midieron espectrofotométricamente con un lector de microplacas (Eliread Kontrolab) y la curva de calibración se hizo con una solución de cloramina-T (Sigma Chemical Co) en presencia de ioduro de potasio el cual se mide a 340 nm. En una placa de 96 pozos (Becton Dickinson) se añadieron 200 μ L de plasma diluido 1:5 con PBS (amortiguador de fosfatos salino) y se les añadió 20 μ L de ácido acético. A los estándares internos con 200 μ L de cloramina-T (0 to 100 μ mol/L), se les añadieron 10 μ L de ioduro de potasio 1.16 mol/L seguidos de 20 μ L de ácido acético. Ya que la cloramina-T absorbe a 340 nm y es lineal en el rango de 0 a 100 μ mol/L, las concentraciones de AOPP se expresaron en μ mol/L de equivalentes de cloramina-T (48).

Para la medición de vitamina C se utilizó el procedimiento descrito por Prieto (49). Este método se basó en la reducción de molibdato (VI) a molibdato (V)

por la muestra, seguido de la formación de un complejo entre el fosfato y el molibdato (V), el cual tuvo una absorción óptima a 695 nm. La curva de calibración se preparó con ácido ascórbico y se leyó a 695 nm.

La SOD se determinó con base en el método de Marklund y Marklund (50). El radical aniónicosuperóxido participa en la autoxidación del pirogalol. Para ello se preparó una solución de pirogalol en HCl (JT Baker, Xalostoc, Mex. México) y se incubó a 40 °C. A 50 µL de muestra se le añadió 200 µL de una mezcla de Tris-EDTA-HCl y se lee a 420 nm en un espectrofotómetro DU 50 (Beckman, Palo Alto, CA. USA). Posteriormente se añadió la solución de pirogalol y se midió el incremento en la absorbencia cada 30 segundos durante 3 min. El blanco de reactivos se realizó de la misma manera pero en lugar de muestra se utilizó agua bidestilada. La actividad de la SOD se expresó en U/mg de proteína.

La actividad de la glutatión total se analizó mediante el método de Beutler et al (51). GSH-Px se encarga de degradar al terbutilidroperóxido (t-BOOH) en presencia de GSH que es consumido. El GSH remanente es medido con el 5,5' ditiobis-(2-ácido nitrobenzoico) (DTNB). La mezcla de reacción contenía 1 mL de GSH (Amresco) 2 mmol en PBS 400 mmol (pH 7.0), EDTA 4 mmol, 0.5% de azida de sodio 1 mmol, 250 µL de muestra biológica y agua bidestilada para aforar a 4 mL. Tras la incubación a 37 °C durante cinco minutos, se añadió 1 mL de T-BOOH 1.25 mmol precalentado y se volvió a incubar por cuatro minutos más. Al final de ese periodo se recuperó 1 mL y se le añadieron 4 mL de ácido fosfórico (High Purity de México), se centrifugó a temperatura

ambiente, y a 2000 x g durante 10 minutos. Se recuperaron 2 mL del sobrenadante y se le añadió 2 mL de Na₂HPO₄ 400 mmol y 1 mL del reactivo de DTNB. La absorbencia se midió a 412 nm. Los blancos y los estándares se prepararon de manera similar. La actividad de GSH-Px se expresó como U/mg de proteína.

La medición de las proteínas en el plasma se basó en el método de Bradford (52) utilizando el azul de Coomassie G-250 (Amresco, Solon, OH. USA) como colorante. Se utilizó albúmina sérica de bovino (A-7906, SIGMA Chem Co., St. Louis MO, EUA) para generar la curva de calibración (0 -100 µg de proteína/mL). Se utilizó un lector de placas de 96 pozos (Eliread), y se leyó a 595 nm. Se utilizaron 50 uL de cada muestra. Todas las mediciones se realizaron por duplicado. Los valores finales fueron expresados como g/dL.

El contenido total de glucosa se midió con base en el procedimiento de fenol-ácido sulfúrico para azúcares (53), la curva estándar se realizó con diferentes concentraciones de glucosa en el rango de 0.01 a 1.0 mg/mL.

Los resultados se almacenaron en una base de datos Excel para su análisis. Dado que no todos los parámetros bioquímicos se apegan a una distribución normal, se obtuvieron los valores de mediana (cuartil inferior - cuartil superior). Las diferencias estadísticas entre los grupos se obtuvieron mediante el análisis de varianza (Anova).

Las diferencias estadísticamente significativas entre los parámetros de los grupos se evaluaron mediante el uso de la prueba no paramétrica de Mann-Whitney o la prueba de Kruskal-Wallis (según fuese el caso). Las correlaciones entre las variables paramétricas se evaluaron utilizando el método de Pierson, o el método de Spearman en el caso de las variables no paramétricas (según fuese el caso). Los resultados con una distribución normal se expresaron como la media \pm error estándar (ES). Se consideró una diferencia estadísticamente significativa como $P < 0.05$. Todos los cálculos estadísticos se realizaron utilizando el programa de computo Prism V.4.0 (GraphPad Software, Inc., San Diego, USA).

Consideraciones éticas

La obtención de la muestra sanguínea y procesamiento de datos se llevó a cabo con base en los principios de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial "Principios Éticos para la Investigación Médica en Seres Humanos" (Helsinki, 1964, enmienda 1975-2000) y la actual Ley General de Salud de los Estados Unidos mexicanos. Todos los datos y la información personal recopilada en este estudio están sujetos a la confidencialidad médica y sólo pueden ser reunidos para el procesamiento y la evaluación en forma anónima. Todas las muestras e información necesaria de todos los sujetos, fue recabada después de su firma del consentimiento informado para participar en el estudio. En ningún caso se sometió a los pacientes a mayor estrés del que esta cualquier tipo de paciente que acude al servicio de consulta externa. Previamente al estudio se les explicó a los pacientes los procedimientos que se

realizaron, y los análisis bioquímicos que se efectuaron, mismos que no representaron ningún gasto extra para el voluntario o sus familiares ya que todos los procedimientos y los materiales consumibles de este estudio fueron proporcionados de manera gratuita. El trabajo en su totalidad se apega a las normas éticas descritas en el Reglamento de la Ley General de Salud de los Estados Unidos Mexicanos, así como a las normas y reglamentos del IMSS.

RESULTADOS

Se reclutaron un total de 76 pacientes, los cuales se agruparon en sujetos aparentemente sanos (N: 27), pacientes diabéticos en control glucémico (N: 16) y pacientes diabéticos en descontrol glucémico (N: 23). Las características demográficas y bioquímicas se presentan en las tablas 1 y 2 respectivamente.

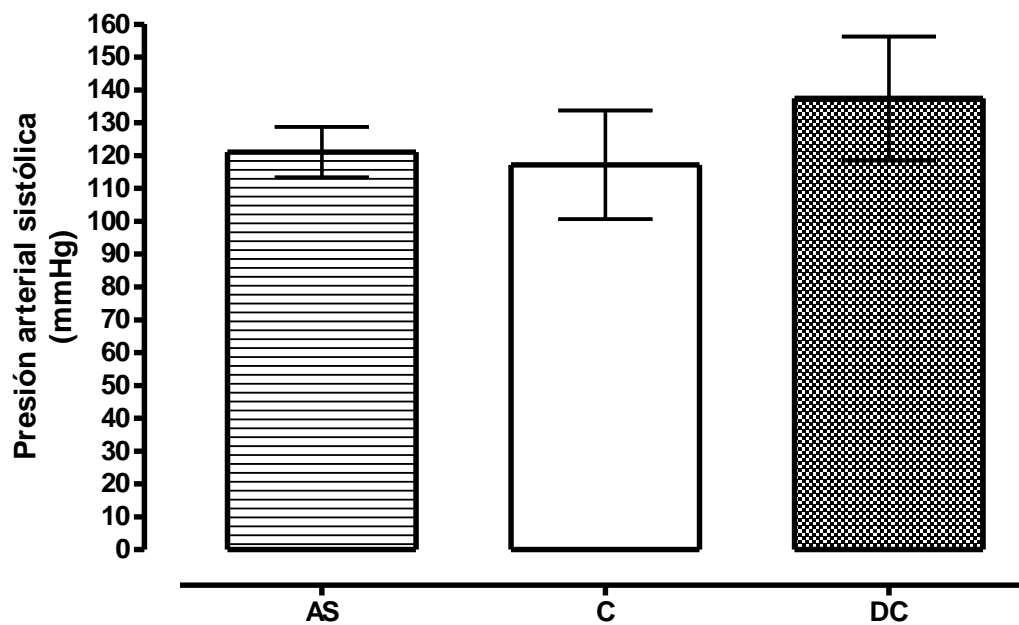
Parámetro	AS (a) N: 27	HbA1c ≤ 7.5% (b) N:16	HbA1c >7.5% (c) N:23	P a/b b/c a/c
Sexo (F)	11	8	13	NA
Edad (años)	54.48 ± 3.35	58.8 ± 8.68	56.39 ± 8.66	>0.05
Peso (kg)	76.63 ± 11.04	71.81 ± 13.3	74.35 ± 12.7	>0.05
Talla (m)	1.63 ± 0.09	1.58 ± 0.10	1.59 ± 0.11	>0.05
IMC (kg/m ²)	28.50 ± 2.81	28.58 ± 3.95	29.18 ± 4.29	>0.05
PAS (mmHg)	121 ± 7	117 ± 16	137 ± 18	>0.05 <0.001 <0.001
PAD (mmHg)	72 ± 7	73 ± 11	81 ± 9	>0.005 <0.05 <0.01
PAM (mmHg)	88 ± 6	88 ± 12	100 ± 11	>0.05 <0.01 <0.001

Tabla 1. Características demográficas. AS: aparentemente sanos; HbA1C: Hemoglobina glucosilada; N: número de participantes; F: femenino; kg: kilogramos; m: metros; IMC: índice de masa corporal; kg/m²: kilogramos sobre metro cuadrado; PAS: presión arterial sistólica; mmHg: milímetros de mercurio; PAD: presión arterial diastólica; PAM: presión arterial media. Los resultados se muestran en valor promedio ± 1 desviación estándar. Se consideró p como estadísticamente significativa si < 0.05.

Parámetro	HbA1c ≤ 7.5% N:16	HbA1c >7.5% N:23	P
Cr (mg/dL)	0.847 ± 0.269	0.986 ± 0.356	0.2005
UREA (mg/dL)	39.08 ± 13.94	40.39 ± 16.543	0.7968
TFG MDRD (ml/min)	85.81 ± 24.67	82.35 ± 33.44	0.7265
TFG CG (ml/min)	93.61 ± 28.85	89.54 ± 34.95	>0.05
GLUCOSA (mg/dL)	112.1 ± 24.76	141.1 ± 62.06	0.0858
Colesterol total (mg/dL)	180 ± 30	192 ± 43	0.3501
Triglicéridos (mg/dL)	167 ± 70	223 ± 132	0.1414
c-HDL (mg/dL)	45 ± 9	45 ± 10	>0.05
c-LDL (mg/dL)	101 ± 27	99 ± 31	>0.05
Albumina (g/L)	4.42 ± 0.334	4.182 ± 0.402	0.067
PCR (mg/dL)	0.228 ± 0.143	0.3006 ± 0.3502	0.4587
VSG (mm/h)	16.21 ± 12.51	25.25 ± 13.29	0.0665
BIL T (mg/dL)	0.62 ± 0.59	0.39 ± 0.22	>0.05
HBA1C (%)	6.39 ± 0.75	9.44 ± 1.59	<0.001
Hb (g/dL)	14.27 ± 1.86	14.18 ± 1.94	0.885
Hto (%)	41 ± 5	42 ± 5	>0.05
Ácido úrico (mg/dL)	5.97 ± 1.68	5.39 ± 1.58	0.3166

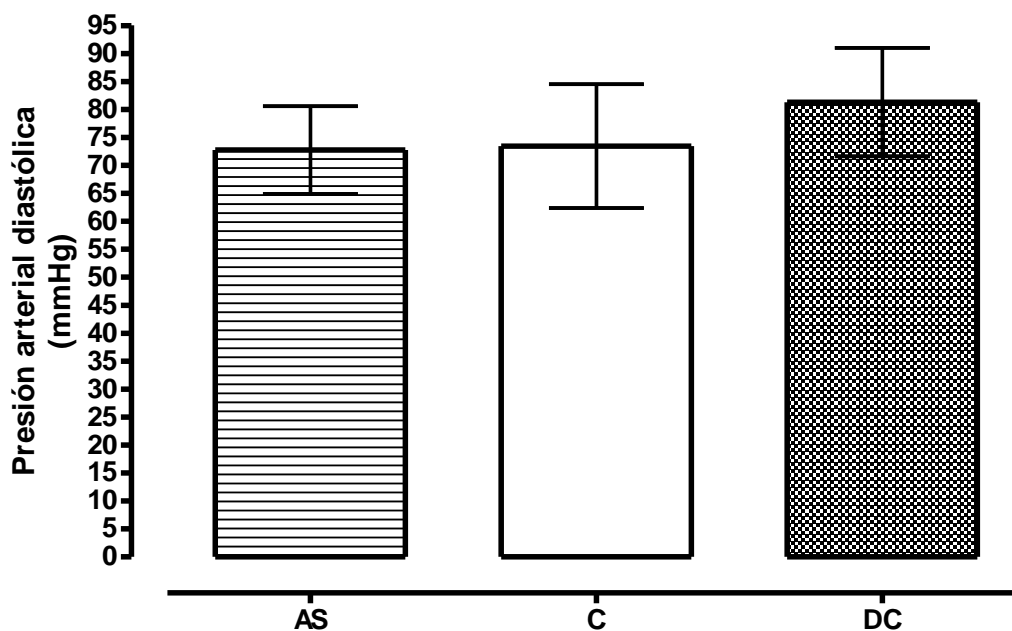
Tabla 2. Características bioquímicas. HbA1C: Hemoglobina glucosilada; N: número de participantes; Cr: creatinina; mg/dl: miligramos sobre decilitro; TFG: tasa de filtrado glomerular; MDRD: Modificación en la dieta en enfermedad renal (siglas en ingles); ml/min: mililitros sobre minuto; CG: Cockcroft-Gault; mg/dl: miligramo sobre decilitro; c-HDL: colesterol con lipoproteína de alta densidad; c-LDL: colesterol con lipoproteína de baja densidad; g/L: gramo sobre litro; Na: sodio; mEq/L: miliequivalentes sobre litro; K: potasio; Cl: cloro; Mg: magnesio; P: fósforo; Ca: calcio; PCR: proteína C reactiva; VSG: velocidad de sedimentación globular; mm/Hr: milímetros sobre hora; Bil T: bilirrubina total; Hb: hemoglobina; g/dl: gramos sobre decilitro; Hto: hematocrito; μ L: microlitro. Los resultados se muestran en valor promedio \pm 1 desviación estándar. Se consideró $p < 0.05$ como significativamente estadístico. *Se omitieron a los sujetos aparentemente sanos en esta tabla ya que fueron reclutados procedentes del banco de sangre como donadores sin patología de base, no contando por ello con niveles de parámetros bioquímicos.

Los niveles de presión arterial sistólica se encontraron con variación de acuerdo a la clasificación en grupos, siendo en pacientes aparentemente sanos de 121 ± 7 mmHg, en el grupo de pacientes diabéticos controlados de 117 ± 16 mmHg y en pacientes con descontrol glucémico 137 ± 18 mmHg, el cual este último presentó diferencia estadísticamente significativa comparada con los grupos previos ($p < 0.001$). (Gráfica 1)



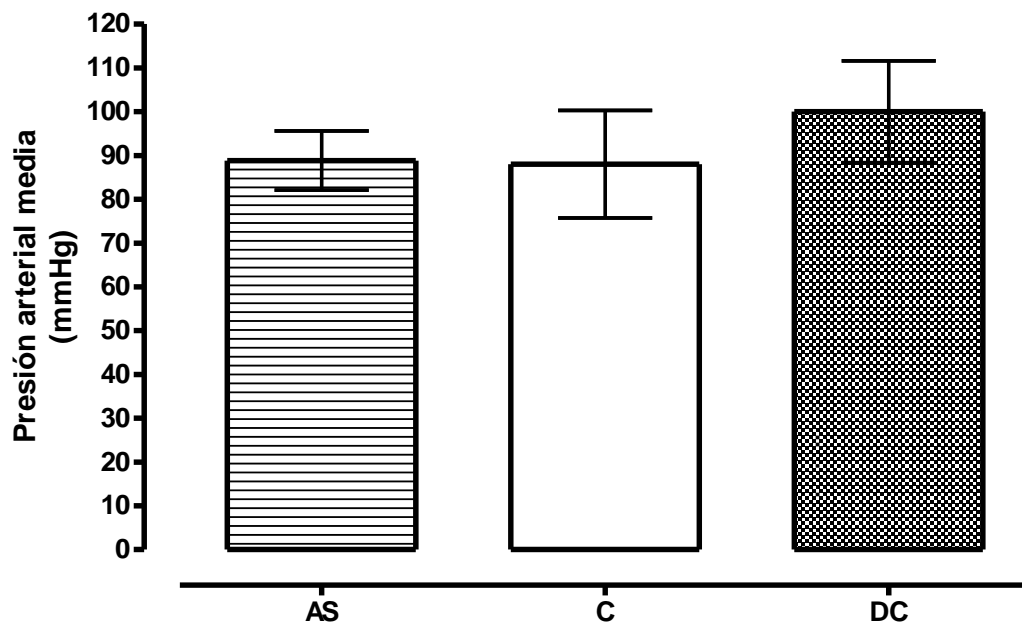
Gráfica 1. Comparación en cifras de presión arterial sistólica. Se muestran los valores promedio así como la desviación estándar. AS: aparentemente sanos; C: hemoglobina glucosilada menor o igual a 7.5%, DC: hemoglobina glucosilada mayor de 7.5%. Se consideró $p < 0.05$ como estadísticamente significativa.

Para la presión arterial diastólica en el grupo de pacientes aparentemente sanos tuvieron media de 72 ± 7 mmHg, los diabéticos controlados 73 ± 11 mmHg y los diabéticos descontrolados de 81 ± 9 mmHg, este último grupo con diferencia estadísticamente significativa respecto al primero ($p < 0.05$) y el segundo ($p < 0.01$). (Gráfica 2)



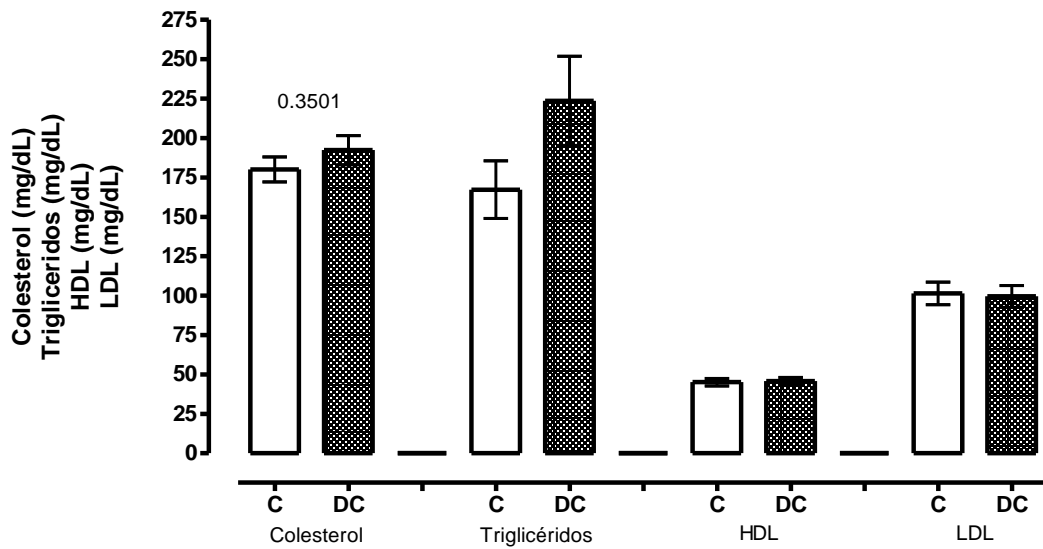
Gráfica 2. Comparación en cifras de presión arterial diastólica. Se muestran los valores promedio así como la desviación estándar. AS: aparentemente sanos; C: hemoglobina glucosilada menor o igual a 7.5%, DC: hemoglobina glucosilada mayor de 7.5%. Se consideró $p < 0.05$ como estadísticamente significativa.

La presión arterial media en pacientes aparentemente sanos fue 88 ± 6 mmHg, de diabéticos controlados 88 ± 12 mmHg y de diabéticos no controlados de 100 ± 11 mmHg, siendo estadísticamente significativo con el primer y segundo grupo ($p < 0.001$ y 0.01 respectivamente). (Gráfica 3)



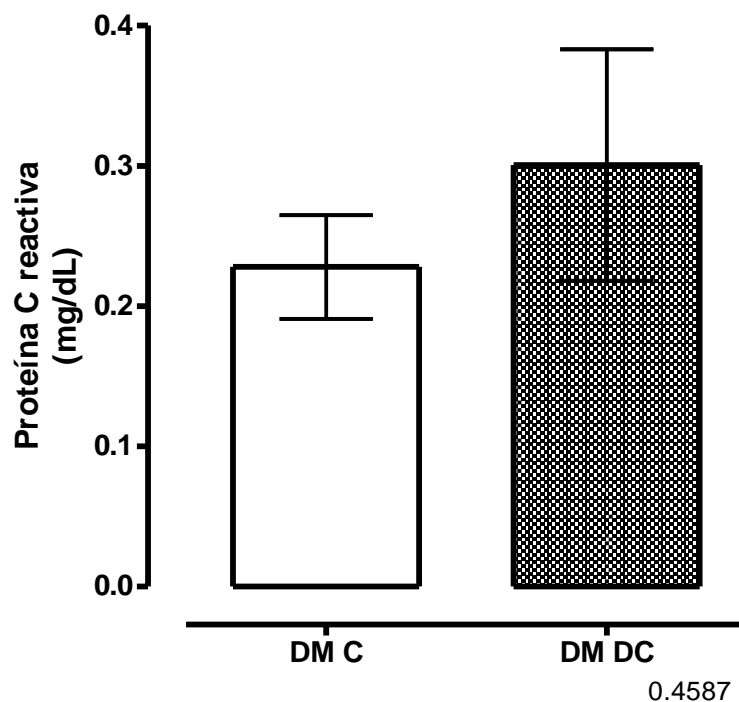
Gráfica 3. Comparación en cifras de presión arterial media. Se muestran los valores promedio así como la desviación estándar. AS: aparentemente sanos; C: hemoglobina glucosilada menor o igual a 7.5%, DC: hemoglobina glucosilada mayor de 7.5%. Se consideró p como estadísticamente significativa < 0.05 .

No se encontraron diferencias en el perfil lipídico, aunque se puede observar tendencia a incremento de triglicéridos en pacientes con descontrol glucémico, encontrando niveles de 223 ± 132 mg/dL, en comparación con individuos controlados con cifras de 167 ± 70 mg/dL, sin embargo no se encontró diferencia estadísticamente significativa (p 0.1414). (Gráfica 4)



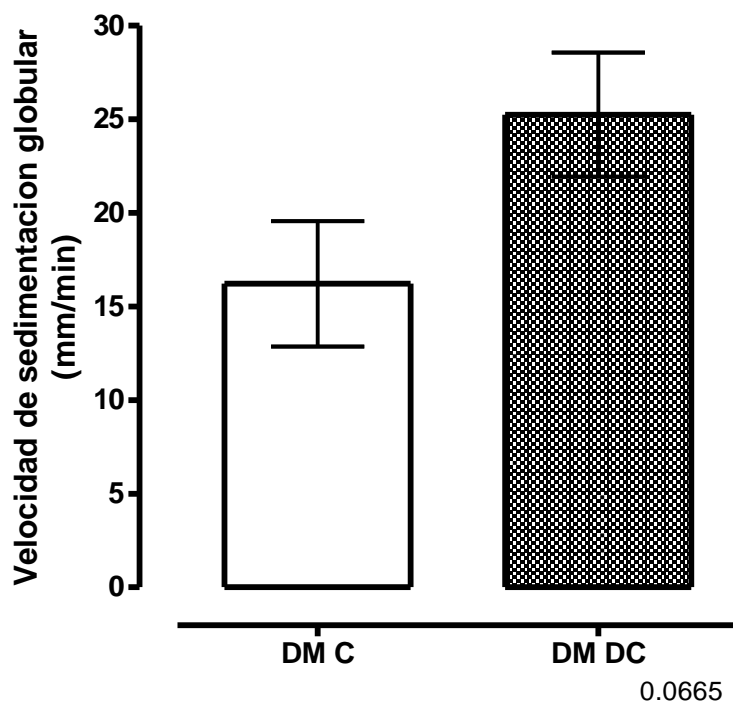
Gráfica 4. Comparación de los niveles del perfil de lípidos en los grupos de estudio. Se muestran valores en medias así como la desviación estándar. C: hemoglobina glucosilada menor o igual a 7.5%, DC: hemoglobina glucosilada mayor de 7.5%, HDL: lipoproteína de alta densidad; LDL: lipoproteína de baja densidad.

Con respecto a los marcadores de inflamación se encontró en pacientes con control glucémico niveles de proteína C reactiva de 0.228 ± 0.143 mg/dL, mientras en el grupo de descontrol glucémico de 0.3006 ± 0.3502 , sin encontrar diferencias estadísticamente significativas (p 0.4587). (Gráfica 5)



Gráfica 5. Niveles de proteína C reactiva en los grupos. Se muestran los valores de media con su desviación estándar, así como el valor de P. DM C: Diabetes mellitus con hemoglobina glucosilada menor o igual de 7.5%, DM DC: Diabetes mellitus con hemoglobina glucosilada mayor de 7.5%.

En la velocidad de sedimentación globular los pacientes con control glucémico fue de 16.21 ± 12.51 mm/h mientras que en pacientes con descontrol glucémico fue de 25.25 ± 13.29 mm/h, sin diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$). (Gráfica 6)



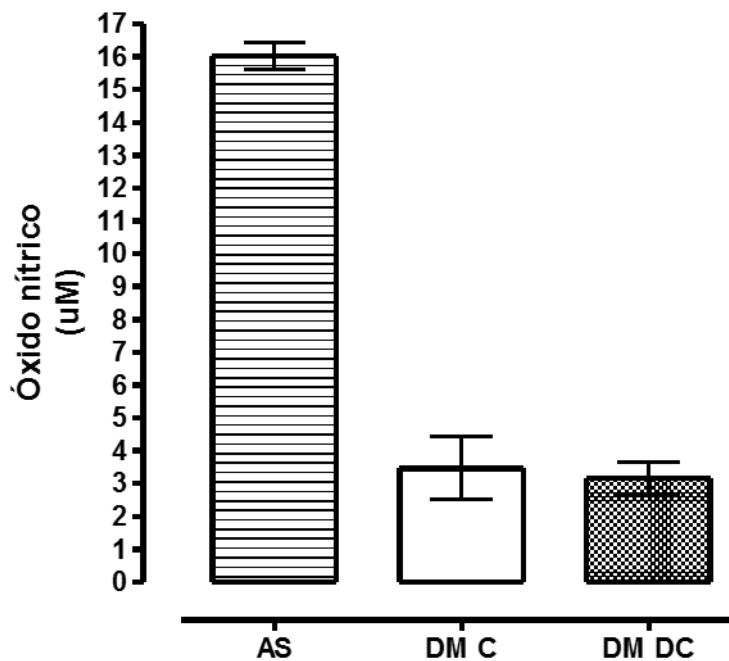
Gráfica 6. Comparación de la velocidad de sedimentación globular en los grupos. Los resultados de muestran en medias con la desviación estándar así como valor de P. DM C: Diabetes mellitus con hemoglobina glucosilada menor o igual de 7.5%, DM DC: Diabetes mellitus con hemoglobina glucosilada mayor de 7.5%.

Los marcadores de estrés oxidativo se muestran en la tabla 3, así como su comparación con cada uno de los grupos.

Parámetro	AS (a) N: 27	P a/b	HbA1c ≤ 7.5% (b) N:16	P b/c	HbA1c >7.5% (c) N:23	P a/c
NOx (uM)	16.02 ± 2.17	<0.001	3.47 ± 3.81	>0.05	2.89 ± 1.81	<0.001
AGES (UAF)	1.55 ± 0.35	<0.01	2.4 ± 0.83	<0.001	3.5 ± 1.25	<0.001
AOPP (uM)	56.096 ± 19.75	>0.05	58.31 ± 23.35	>0.05	51.96 ± 13.1	>0.05
VIT C (mM)	1.3 ± 0.31	>0.05	1.56 ± 0.39	<0.001	0.74 ± 0.12	<0.001
GSH (uM)	1.47 ± 0.71	<0.001	0.56 ± 0.21	>0.05	0.52 ± 0.15	<0.001
SOD (% IDP)	75.55 ± 7.76	<0.001	62.27 ± 14.53	>0.05	59.33 ± 10.53	<0.001

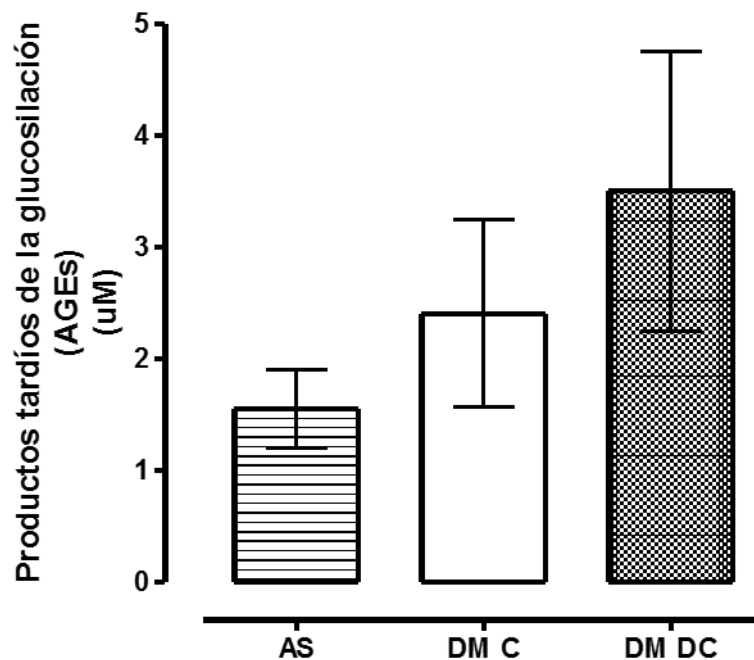
Tabla 3. Marcadores de estrés oxidativo. AS: Sujetos aparentemente sanos; HbA1C: Hemoglobina glucosilada; N: número de participantes; NO: óxido nítrico; uM: micromolar; AGES: Productos tardíos de glucosilación; UAF: unidades arbitrarias de fluorescencia; AOPP: productos de oxidación avanzada de proteínas; VIT C: vitamina C; mM: milimolar; GSH: glutatión; SOD: superóxido dismutasa; IDP: inhibición de pirogallol. Los resultados se muestran en valor promedio ± 1 desviación estándar. Se consideró p<0.05 como estadísticamente significativa.

En relación a los niveles de NOx el grupo de pacientes aparentemente sanos tuvieron valores de 16.02 ± 2.17 uM, mientras que los del grupo de diabéticos controlados y descontrolados contaban con valores de 3.47 ± 3.81 uM y 2.89 ± 1.81 uM respectivamente, teniendo diferencias estadísticamente significativas únicamente comparando individuos diabéticos con controles aparentemente sanos ($p < 0.001$). (Gráfica 7)



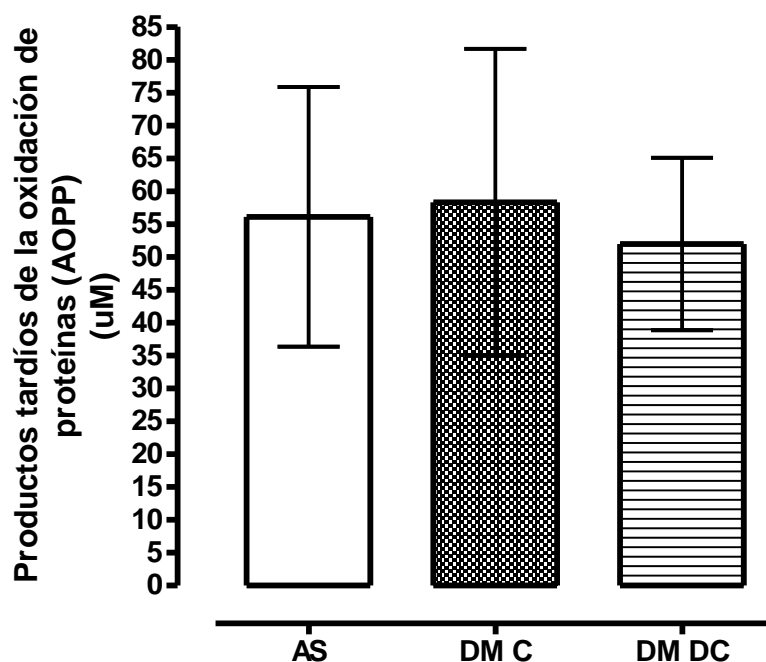
Gráfica 7. Comparación en niveles de óxido nítrico en los diferentes grupos. Resultados mostrados en media con su desviación estándar. AS: sujetos aparentemente sanos; DM C: diabetes mellitus con hemoglobina glucosilada menor o igual de 7.5%, DM DC: diabetes mellitus con hemoglobina glucosilada mayor de 7.5%, uM: micromolar.

Los niveles de productos tardíos de la glucosilación en sujetos aparentemente sanos fue de 1.55 ± 0.35 uM, en sujetos con control glucémico de 2.4 ± 0.83 uM y en individuos con descontrol glucémico de 3.5 ± 1.25 uM, con diferencias estadísticamente significativas entre todos los grupos ($p < 0.01$ G0/G1 y $p < 0.001$ en G0/G2 y G1/G2). (Gráfica 8)



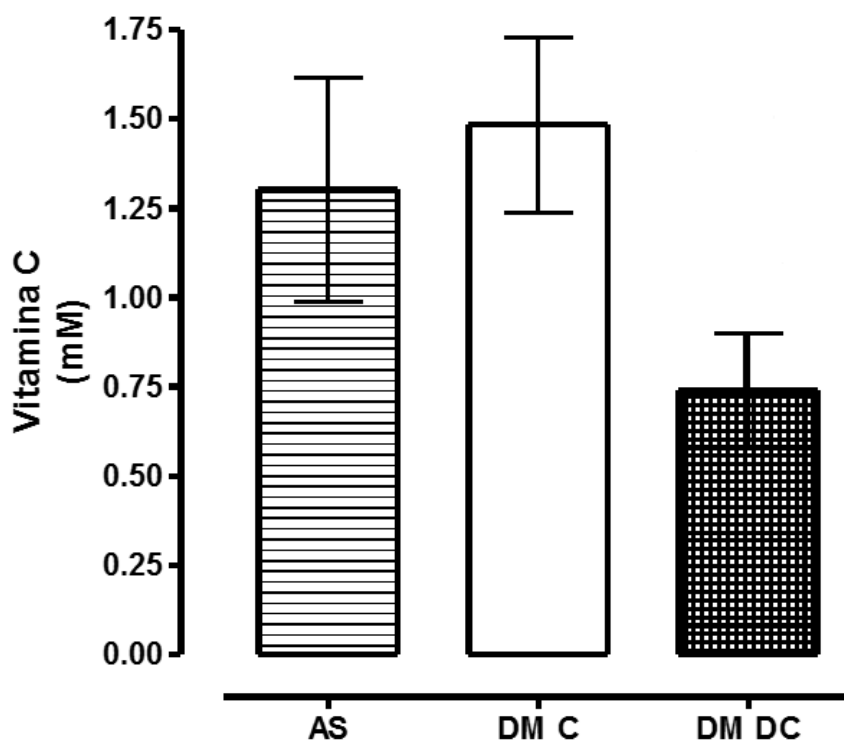
Gráfica 8. Niveles de productos tardíos de la glucosilación en los diferentes grupos. Resultados mostrados en media con su desviación estándar. AS: sujetos aparentemente sanos; DM C: diabetes mellitus con hemoglobina glucosilada menor o igual de 7.5%, DM DC: diabetes mellitus con hemoglobina glucosilada mayor de 7.5%, uM: micromolar.

Los niveles de productos tardíos de la oxidación de proteínas en sujetos aparentemente sanos fue de 56.096 ± 19.75 uM, en diabéticos controlados de 58.31 ± 23.35 uM y en diabéticos descontrolados de 51.96 ± 13.1 uM, sin presentar diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de los grupos ($p > 0.05$). (Gráfica 9)



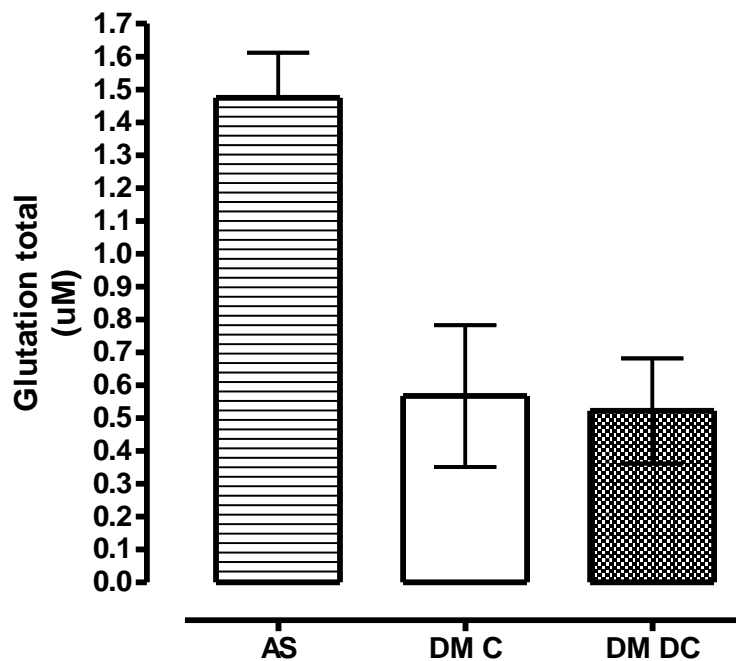
Gráfica 9. Niveles de productos tardíos de la oxidación de proteínas en los diferentes grupos. Resultados mostrados en media con su desviación estándar. AS: sujetos aparentemente sanos; DM C: diabetes mellitus con hemoglobina glucosilada menor o igual de 7.5%, DM DC: diabetes mellitus con hemoglobina glucosilada mayor de 7.5%, uM: micromolar.

Los niveles de vitamina C encontrados en pacientes aparentemente sanos fueron de 1.3 ± 0.31 mM, en sujetos con control glucémico de 1.56 ± 0.39 mM y en sujetos con descontrol glucémico fue de 0.74 ± 0.12 mM, con diferencias estadísticamente significativas entre el último grupo con los primeros dos ($p < 0.001$ G0/G2 y G1/G2), mientras que los primeros no tuvieron diferencia significativa ($p > 0.05$). (Gráfica 10)



Gráfica 10. Niveles de vitamina C en los diferentes grupos. Resultados mostrados en media con su desviación estándar. AS: sujetos aparentemente sanos; DM C: diabetes mellitus con hemoglobina glucosilada menor o igual de 7.5%, DM DC: diabetes mellitus con hemoglobina glucosilada mayor de 7.5%, mM: milimolar.

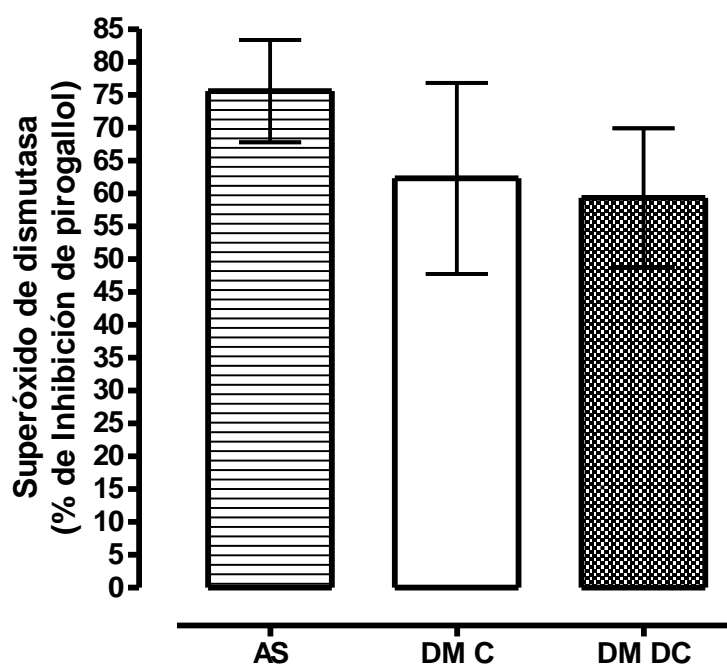
Los niveles de glutatión en sujetos aparentemente sanos fueron de 1.47 ± 0.71 uM, de aquellos con control glucémico de 0.56 ± 0.21 uM y los pacientes con descontrol glucémico de 0.52 ± 0.15 uM, con diferencias estadísticamente significativas entre sujetos aparentemente sanos comparados con aquellos diabéticos ($p < 0.001$) y sin diferencia entre individuos diabéticos independientemente de su estado de control ($p > 0.05$). (Gráfica 11)



Gráfica 11. Niveles de glutatión en los diferentes grupos. Resultados mostrados en media con su desviación estándar. AS: sujetos aparentemente sanos; DM C: diabetes mellitus con hemoglobina glucosilada menor o igual de 7.5%, DM DC: diabetes mellitus con hemoglobina glucosilada mayor de 7.5%, uM: micromolar.

Por último los niveles de SOD en individuos aparentemente sanos fueron de 75.55 ± 7.76 % IDP, en los pacientes con control glucémico de 62.27 ± 14.53 % IDP y en aquellos pacientes en descontrol glucémico de 59.33 ± 10.53 % IDP, con diferencias estadísticamente significativas entre los sujetos aparentemente sanos comparados con aquellos diabéticos ($p < 0.001$) y sin diferencia entre individuos diabéticos independientemente de su estado de control ($p > 0.05$).

(Gráfica 12)



Gráfica 12. Niveles de SOD en los diferentes grupos. Resultados mostrados en media con su desviación estándar. AS: sujetos aparentemente sanos; DM C: diabetes mellitus con hemoglobina glucosilada menor o igual de 7.5%, DM DC: diabetes mellitus con hemoglobina glucosilada mayor de 7.5%.

DISCUSIÓN

En cuanto a características clínicas los pacientes se puede observar que aquellos con mayores niveles de hemoglobina glucosilada presentaron cifras tensionales más altas. Esto puede ser en relación a que estos últimos al coexistir con comorbilidades como hipertensión arterial sistémica también lleven un mal control en dicha patología.

Con respecto al perfil lipídico, no se observó diferencias en niveles de colesterol ni sus variedades de lipoproteínas, sin embargo los niveles de triglicéridos a pesar de no presentar significancia estadística si se logra observar tendencia a mayores niveles, esto puede ser explicado por los mecanismos fisiopatológicos que conllevan a mayor producción de triacilgliceroles al contar con niveles plasmáticos constantemente elevados en plasma de glucosa.

No se encontró diferencias estadísticamente significativa en cuanto a marcadores séricos de respuesta inflamatoria sistémica, ninguno de los pacientes presentó patología infecciosa reciente, sin embargo los niveles de proteína C reactiva y la velocidad de sedimentación globular fueron generalmente mayores en aquellos pacientes con altos niveles de hemoglobina glucosilada.

Los resultados de marcadores de estrés oxidativo fueron heterogéneos en general, encontrando principales diferencias agrupando a los sistemas

enzimáticos. El primero de ellos, el óxido nítrico es considerado como radical libre, sin embargo con varias funciones biológicas, tiene una potente actividad como vasodilatador a nivel del endotelio vascular, llamando la atención su considerable disminución en los pacientes con diabetes, independientemente de su grado de control glucémico, aunque algo más acentuado en aquellos con mayor descontrol. Esto nos lleva a la posibilidad de relacionarlo con el estado clínico de cifras tensionales de estos pacientes, pudiendo probablemente considerar a aquellos con niveles intermedios como probables estados compensatorios mediante otros mecanismos de vasodilatación, mientras que en pacientes más avanzados presenten un agotamiento de estos y por lo tanto llevar a comorbilidades vasculares.

Con respecto a los productos avanzados de la glucosilación, éstos presentaron una tendencia al aumento conforme existía mayor descontrol glucémico en los sujetos de estudio. Ya que la hemoglobina glucosilada se puede considerar como un elemento de éstos es esperable que la estratificación de grupos lleve a estos hallazgos, considerando como una forma de control de calidad al determinar por diversos métodos la presencia de éstos elementos en sangre. Se han relacionado estos a complicaciones crónicas de la diabetes como enfermedad renal, resaltando que nuestro grupo de pacientes no presentaban tasas de filtrado glomerular por debajo de 45 ml/min, por lo que puede considerarse en un futuro como marcador predictor de desarrollo de glomerulopatía diabética.

Los reportes de la literatura sobre estos biomarcadores son en cierta medida contradictorios, y en este caso no encontramos asociaciones con respecto a niveles considerados para los médicos de atención general aceptables mayor o menor elevación con marcadores de estrés oxidativo.

Por otro lado los productos de la oxidación de las proteínas no se encontraron diferencias significativas. Estos han sido relacionados con complicaciones de tipo retinopatía, obesidad mórbida y presencia de patología vascular. Sin embargo en nuestro grupo no existieron diferencias con respecto a peso o índice de masa corporal en relación a individuos sanos, además, aunque algunos de nuestros pacientes ya eran portadores de complicaciones a nivel retiniano es necesario reclutar un mayor número de individuos con dicha característica para determinar si con ellos se presenta mayor alteración en éste parámetro.

La vitamina C es considerado un marcador de capacidad antioxidante. Los resultados encontrados en nuestro estudio indican que los pacientes con control glucémico presentan mayores niveles en promedio que aquellos sin control, sin embargo llama la atención que aunque no hay diferencia significativa entre el grupo de pacientes aparentemente sanos y pacientes controlados, estos últimos presentaban niveles un poco mayores. Ningún paciente afirmó haber ingerido suplementos vitamínicos en algún momento de su enfermedad, sin embargo hay que considerar que tal vez cambios en la alimentación u otras fuentes de vitaminas puedan explicar este tipo de comportamiento en los análisis de laboratorio.

Los niveles de glutatión se encontraron importantemente disminuidos en pacientes diabéticos con respecto a individuos sanos, esto nos lleva a pensar que la pura enfermedad puede ser una condicionante de la depleción en las reservas de este fuerte antioxidante intracelular. Otros trabajos han publicado que en pacientes con difícil control glucémico la administración de cisteína y glicina (aminoácidos precursores del glutatión), pueden repletar los niveles de GSH y con ello permitir un mejor control de dichos pacientes, esto representa otra línea de investigación en este ámbito.

Por último la SOD parece que se encuentra en menores niveles en pacientes diabéticos comparados con aquellos individuos sanos. Este último hallazgo aparentemente no se relaciona con otras publicaciones que sostienen que se eleva en pacientes con diabetes, sin embargo esta enzima de actividad antioxidante se ha relacionado mayormente con actividad microangiopática, en especial pacientes que tienen nefropatía, y ya que este era un criterio de exclusión de nuestro estudio, es por ello que se puede explicar este comportamiento. Previamente se ha reportado que los niveles de hemoglobina glucosilada no parecen relacionarse con este marcador de estrés oxidativo, lo que coincide con nuestro estudio.

Otra de las razones por las que probablemente no se hayan encontrado diferencias significativas en los reactantes sea porque estos no se han relacionado con importantes elevaciones a nivel sérico, actividad a nivel local de diversas estructuras anatómicas, tales como el endotelio vascular o como

en órganos diana, donde se encuentran las complicaciones crónicas de la diabetes, por lo que en un futuro podríamos considerar otros medios para la medición de dichas especies reactivas de oxígeno.

CONCLUSIONES

La diabetes mellitus es un estado con alto nivel de estrés oxidativo. No podemos decir que una sea la causante de la otra, sin embargo si existe una gran asociación de dichas entidades, por lo que la presencia de una nos puede orientar hacia el diagnóstico y tratamiento de la otra. Los médicos de primer nivel de atención deben de ser capaces de identificar estos grupos de pacientes, y la implementación de métodos accesibles para determinar los principales marcadores deberían poder ser el complemento para poder iniciar un tratamiento oportuno de así considerarlo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Stumvoll M, Goldstein BJ, van Haeften TW. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *Lancet*. 2005; 365(9467):1333-46.
2. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes 2017: Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care*. 2017;40(1):11–24.
3. International Diabetes Federation. Diabetes atlas [Internet]. 7ª ed. 2015. Disponible en <http://www.diabetesatlas.org>.
4. World Bank. World Development Indicators ICP database. GNI per capita, PPP (current international \$) [Internet]. Washington DC, USA: 2014. Disponible en <http://data.worldbank.org>.
5. Instituto Nacional de Salud Pública. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016 [Internet]. México: 2016. Disponible en <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/209093/ENSANUT.pdf>.
6. Scott RA, Langenberg C, Sharp SJ, Franks PW, Rolandsson O, Drogan D, et al. The link between Family History and risk of Type 2 Diabetes is Not Explained by Anthropometric, Lifestyle or Genetic Risk Factors: the EPIC-InterAct Study. *Diabetologia*. 2013; 56(1):60–9.
7. Shai I, Jiang R, Manson JE, Stampfer MJ, Willett WC, Colditz GA, et al. Ethnicity, Obesity, and Risk of Type 2 Diabetes in Women. *Diabetes Care*. 2006; 29(7):1585–90.
8. Menke A, Rust KF, Fradkin J, Cheng YJ, Cowie CC. Associations Between Trends in Race/Ethnicity, Aging, and Body Mass Index With Diabetes Prevalence in the United States: a series of cross-sectional studies. *Ann Intern Med*. 2014; 161(5):328-35.
9. Biggs ML, Mukamal KJ, Luchsinger JA, Ix JH, Carnethon MR, Newman AB, et al. Association Between Adiposity in Midlife and Older Age and Risk of Diabetes in Older Adults. *JAMA*. 2010;303(24):2504–12.

10. Harder T, Rodekamp E, Schellong K, Dudenhausen JW, Plagemann A. Birth Weight and Subsequent Risk of Type 2 Diabetes: A Meta-Analysis. *Am J Epidemiol.* 2007; 165(8):849–57.
11. Reis JP, Loria CM, Sorlie PD, Park Y, Hollenbeck A, Schatzkin A. Lifestyle Factors and Risk for New-Onset Diabetes in a Large Population-Based Prospective Cohort Study. *Ann Intern Med.* 2011; 155(5):292–9.
12. Ley SH, Hamdy O, Mohan V, Hu FB. Prevention and management of type 2 diabetes: dietary components and nutritional strategies. *Lancet.* 2014; 383(9933):1999–2007.
13. Patel CJ, Bhattacharya J, Butte AJ. An Environment-Wide Association Study (EWAS) on Type 2 Diabetes Mellitus. *PLoS One.* 2010; 5(5):e10746.
14. Laguna J, Piña E, Martínez-Montes F, Pardo-Vázquez JP, Rivero-Rosas H. Radicales libres y estrés oxidativo. *Bioquímica de Laguna.* 6ª ed. México: Manual moderno; 2009. P. 189-203.
15. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007; 39(1):44-84.
16. Imig JD, Ryan MJ. Immune and Inflammatory role in renal disease. *Compr Physiol.* 2013; 3(2):957-76.
17. Himmelfarb J, Stenvinkel P, Ikizler TA, Hakim RM. The elephant in uremia: Oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. *Kidney Int.* 2002; 62(5):1524-38.
18. Kitiyakara C and Wilcon CS. Antioxidants for hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 1998; 7(5):531-8.
19. Henle ES, Luo Y, Gassmann W, Linn S. Oxidative damage to DNA constituents by iron-mediated fenton reactions. *J Biol Chem.* 1996; 271(35):21177-86.
20. Kinlay S, Libby P, Ganz P. Endothelial function and coronary artery disease. *Curr Opin Lipidol.* 2001; 12(4):383-9.

21. Wung BS, Cheng JJ, Shyue SK, Wang DL. NO modulates monocyte chemotactic protein-1 expression in endothelial cells under cyclic strain. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21(12):1941-7.
22. Halliwell B. What nitrates tyrosine? Is nitrotyrosin specific as a biomarker of peroxynitrite formation in vivo?. *FEBS Lett.* 1997; 411(2-3):157-60.
23. Niwa T. 3-deoxyglucosone: metabolism, analysis, biological activity, and clinical implication. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 1999;731(1):23-6.
24. Fukase S, Sato S, Mori K, Secchi EF, Kador PF. Polyol pathway and NADPH-dependent reductases in dog leukocytes. *J Diabetes Complications.* 1996; 10(6):304-13.
25. Díaz-Flores M, Baiza-Gutman LA, Ibáñez-Hernández MA, Pascoe-Lira D, Guzmán-Greenfel AM, Kumate-Rodríguez J. Aspectos moleculares del daño tisular inducido por la hiperglucemia crónica. *Gac Med Mex.* 2004; 140(4):437-47.
26. Burg MB, Kador PF. Sorbitol, osmoregulation, and the complications of diabetes. *J Clin Invest.* 1988; 81(3):635-40.
27. Chibber R, Ben-Mahmud BM, Mann GE, Zhang JJ, Kohner EM. Protein kinase C beta 2-dependent phosphorylation of core 2 GlcNAc-T promotes leukocyte-endothelial cell adhesion: a mechanism underlying capillary occlusion in diabetic retinopathy. *Diabetes.* 2003; 52(6):1519-27.
28. Park JY, Takahara N, Gabriele A, Chou E, Naruse K, Suzuma K, et al. Induction of endothelin-1 expression by glucose: an effect of protein kinase C activation. *Diabetes.* 2000; 49(7):1239-48.
29. Roselaar SE, Nazhat NB, Winyard PG, Jones P, Cunningham J, Blake DR. Detection of oxidants in uremic plasma by electron spin resonance spectroscopy. *Kidney Int.* 1995; 48(1):199-206.
30. Yung LM, Leung FP, Yao X, et al. Reactive oxygen species in vascular wall. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets.* 2006; 6(1):1-19.

31. Sharma AK, Arora M, Goyle A, Jain R, Gupta H, Gupta R. Lipid peroxide levels in chronic renal failure. *J Assoc Physicians India*. 1999; 47:296-7.
32. Akpolat T, Akpolat I, Ozturk H, Sarikaya S, Cosar AM, Bedir A. Effect of vitamin E and pentoxifylline on glycerol-induced acute renal failure. *Nephron*. 2000;84:243-7.
33. Olivares-Corichi IM, Ceballos G, Ortega-Camarillo C, Guzman-Grenfell AM, Hicks JJ. Reactive oxygen species (ROS) induce chemical and structural changes on human insulin in vitro, including alterations in its immunoreactivity. *Front Biosci*. 2005; 10:838-43.
34. Rahangdale S, Yeh SY, Malhotra A, Veves A. Therapeutic interventions and oxidative stress in diabetes. *Front Biosci*. 2009;14(1):192-209.
35. Cowell RM, Russell JW. Nitrosative injury and antioxidant therapy in the management of diabetic neuropathy. *J Investig Med*. 2004; 52(1):33-44.
36. Lazalde-Ramos BP, Zamora-Perez AL, Sosa-Macías M, Guerrero-Velázquez C, Zúñiga-González GM. DNA and oxidative damages decrease after ingestion of folic acid in patients with type 2 diabetes. *Arch Med Res*. 2012; 43(6):476-81.
37. Luévano-Contreras C, Garay-Sevilla ME, Wrobel K, Malacara JM, Wrobel K. Dietary advanced glycation end products restriction diminishes inflammation markers and oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Biochem Nutr*. 2013; 52(1):22–6.
38. Stentz FB, Umpierrez GE, Cuervo R, Kitabchi AE. Proinflammatory cytokines, markers of cardiovascular risks, oxidative stress, and lipid peroxidation in patients with hyperglycemic crises. *Diabetes*. 2004; 53(8):2079-86.
39. Li J, Huang M and Shen X. The association of oxidative stress and pro-inflammatory cytokines in diabetic patients with hyperglycemic crisis. *J Diabetes Complications*. 2014; 28(5):662-6.
40. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, et al. Oxygen radicals and human disease. *Ann Internal Med*. 1987; 107(4):526-45.

41. Jiménez-Rosales A, Amaya-Chávez A, Domínguez García MV, Camarillo-Romero E, Huitrón Bravo GG, Cruz AM. Association of inflammatory and oxidative stress biomarkers in subjects with cardiovascular risk. *Am J Ther.* 2013; 20(4):422-31.
42. Guerrero-Romero F, Rodríguez-Morán M. Hypomagnesemia, oxidative stress, inflammation, and metabolic syndrome. *Diabetes Metab Res Rev.* 2006; 22(6):471-6.
43. Butkowski EG, Jelinek HF. Hyperglycaemia, oxidative stress and inflammatory markers. *Redox Rep.* 2016; 22:1-8.
44. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972;18(6):499–502.
45. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrite, nitrate and [15N] nitrate in biological fluids. *Anal Biochem.* 1982; 126(1):131-8.
46. Gallardo JM. Evaluación del sistema antioxidativo en el semen normal. *Rev Invest Clin.* 2007; 59(1):42-7.
47. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillère-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, et al. Advanced oxidations protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int.* 1996; 49(5):1304-13.
48. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Nguyen Khoa T, Capeillère-Blandin C, Nguyen AT, Canteloup S, et al. Advanced oxidation protein products as novel mediators of inflammation and monocyte activation in chronic renal failure. *J Immunol.* 1998; 161(5):2524-32.
49. Prieto P, Pineda M, Aguilar M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem.* 1999; 269(2):337-41.
50. Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem.* 1974; 47(3):469-74.

51. Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med.* 1963; 61:882-8.
52. Bradford MM. A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976; 72:248–54.
53. Saha SK, Brewer CF. Determination of the concentrations of oligosaccharides, complex type carbohydrates, and glycoproteins using the phenol-sulfuric acid method. *Carbohydr Res.* 1994; 254:157-67.

ANEXOS

1. Consentimiento informado
2. Operativización de variables
3. Formato de recolección de datos

1. Consentimiento informado

Coordinación de Investigación en Salud

Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Nefrológicas
ESTUDIO DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN DIABETES MELLITUS TIPO 2 EN
ADULTOS

Juan Manuel GALLARDO MONTOYA (1), Gilberto Trinidad PLAZA YAMASAKI (2), María Eugenia GALVAN PLATA (2), Patricia VALDEZ CABALLERO (1).
Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Nefrológicas (1), Servicio de Medicina Interna (2). Hospital de Especialidades. Centro Médico Nacional "Siglo XXI". IMSS.

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN EL PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

“ESTUDIO DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN DIABETES MELLITUS TIPO 2 EN ADULTOS”

Número de Registro: _____

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica, antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los apartados señalados en esta carta de consentimiento informado. Usted puede sentirse con la absoluta libertad de preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a comprender o aclarar sus dudas al respecto.

Justificación del estudio

La diabetes mellitus tipo 2 es una de las grandes epidemias que de forma conjunta están llevando a una crisis aguda en el sector de salud de nuestro país. Más de 12% padecen de diabetes y sus complicaciones.

Desafortunadamente, México es el país con más incidencia de diabetes a nivel mundial, y el segundo en términos de la obesidad. Más del 20% del presupuesto del sector de salud se usa para tratar la diabetes y sus complicaciones. Además, la diabetes, facilita las complicaciones como enfermedades cardiovasculares.

A pesar de que estas enfermedades han sido muy estudiadas, lo que sabemos es mucho menos de lo que no sabemos. Esto se debe al hecho que son enfermedades complejas, donde entra un sinnúmero de factores.

Objetivo del estudio

A usted se le está invitando a participar en un estudio de investigación médica que tiene como objetivos entender mejor la diabetes mellitus tipo 2, obteniendo datos con los que se puede evaluar la importancia relativa de los distintos factores de complicaciones. Esto permitirá realizar una detección más temprana de las complicaciones de la diabetes y de valorar si el tratamiento que reciben los pacientes puede mejorarse.

Procedimientos

Si reúne las condiciones para participar en este protocolo y de aceptar participar en él, se le realizarán las siguientes pruebas y procedimientos:

1. Se le solicitará que responda un cuestionario sobre la salud de usted y para conocer sus antecedentes familiares y personales, así como una evaluación clínica.
2. Se le tomará una muestra de 4-6 (cuatro-seis) mL de sangre de una vena del antebrazo. Para ello, es necesario que se presente en ayuno de 8 horas, sin haber ingerido bebidas alcohólicas 24 horas antes.
3. Su muestra de sangre se usará para medir la concentración de sustancias relacionadas con el estrés oxidativo y/o será almacenado en la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Nefrológicas. Los datos serán codificados de acuerdo al número que se le asigne en el estudio. Por ello, quién tenga acceso a su muestra de sangre, sus resultados o a sus análisis, no tendrá acceso a su nombre.
4. Las muestras de material biológico obtenidas en este proyecto formarán parte de un reservorio de muestras biológicas que podrán ser utilizadas en proyectos médicos futuros, incluyendo pero no limitándose a análisis bioquímicos. De igual manera, la información generada de este proyecto podrá ser utilizada para el desarrollo de investigaciones futuras.

Posibles riesgos y molestias

Las molestias o riesgos asociados con los procedimientos de evaluación clínica (medición de peso, talla, cintura, tensión arterial, etc.). Se trata de estudios clínicos no invasivos que no ocasionan dolor, incomodidad o riesgo alguno.

Durante el procedimiento para obtener la muestra de sangre de una vena del brazo, puede sentir alguna molestia o dolor ligero. En algunas personas se puede presentar un moretón de dimensiones variables (hematoma) que desaparecerá en algunos días.

Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio

Este estudio ayudará tener un mejor entendimiento de los factores de riesgo bioquímicos que están involucrados con estas enfermedades. En su momento, esta información puede ser usada para respaldar la toma de decisiones tanto al nivel individual como al nivel del sistema de salud. En lo personal los exámenes de laboratorio son sin costo para usted y los resultados obtenidos serán proporcionados a usted y serán para que los médicos conozcan más sobre su enfermedad así como poder proporcionarle un mejor manejo.

Información sobre resultados y alternativas de tratamiento

Tanto la información correspondiente a usted como a del resto de la participantes de este estudio serán mantenidas con absoluta confidencialidad, los resultados que obtengamos serán utilizados para la difusión de las conclusiones del estudio, en ningún momento se hará mención de su persona ni de la condición actual de su estado de salud.

Debido a que el estudio no le proporcionara ningún tipo de medicamentos o de procedimientos quirúrgicos, no es posible darle alternativas de tratamiento, su tratamiento será como su médico le esté atendiendo.

Participación o retiro

1. Su participación en este estudio es completamente voluntaria. En caso de que participe o no, la atención médica que recibe en esta institución no se verá afectada de ninguna manera.
2. Si decide participar en el estudio, y después decidiera abandonarlo, podrá hacerlo en el momento que así usted lo considere conveniente.
3. No recibirá pago alguno por su participación.
4. Para efectos de este protocolo, ni usted ni su familia tendrán que realizar pago alguno.
5. Durante el curso del desarrollo de este proyecto, usted puede solicitar información actualizada o los resultados de sus muestras.
6. Usted puede acudir en cualquier momento a las comisiones de Investigación y Ética del Hospital de Especialidades o de la Coordinación de Investigación Médica en caso de que tenga dudas sobre sus derechos como participante.

Privacidad y confidencialidad

La información obtenida de este estudio utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores médicos.

Usted conservará una copia de este documento.

Beneficios al término del estudio

Este estudio ayudará tener un mejor entendimiento de los factores de riesgo que están involucrados con estas enfermedades. En su turno esta información puede ser usada para respaldar la toma de decisiones tanto al nivel individual como al nivel del sistema de salud. En lo personal los exámenes de laboratorio son sin costo para usted y los resultados obtenidos serán proporcionados a los médicos que le darán el seguimiento (en el caso de pacientes que captados a través de Instituciones de Salud) o de manera personal a los participantes.

Personal de contacto para dudas y aclaraciones sobre el estudio

Si tiene preguntas o requiere de mayor información sobre este estudio de investigación puede comunicarse de 9:00 a 17:00 hrs, de lunes a viernes con la Dra. María Eugenia GALVAN PLATA, que es co-investigador médico de este estudio, a los teléfonos: (01 55) 5627 6900 ext. 21909 en el Servicio de Medicina interna del Hospital de Especialidades o con el Dr. Juan Manuel GALLARDO al teléfono (01 55) 5627 6900 ext. 21371 en la Unidad de Investigación en Enfermedades Nefrológicas ubicada en la planta baja del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional "Siglo XXI" del IMSS localizado en la Av. Cuauhtémoc 330. Col. Doctores. Delegación Cuauhtémoc, Ciudad de México. En caso de presentarse una emergencia derivada del estudio, usted puede dirigirse a su clínica de adscripción y/o acudir al Centro

Médico Nacional "Siglo XXI" del IMSS.

Personal de contacto para dudas sobre sus derechos como participante en un estudio de investigación

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: comision.etica@imss.gob.mx.

He leído y comprendo totalmente este documento de autorización. Estoy satisfecho con las explicaciones del médico al contestar a todas mis preguntas.

- No autoriza que se tome la muestra.
- Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio.
- Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros.

EN CONSECUENCIA, DOY MI CONSENTIMIENTO PARA QUE MIS MUESTRAS SEAN UTILIZADAS PARA ESTE Y FUTUROS ESTUDIOS DE INVESTIGACIÓN MÉDICA, ENTIENDO QUE PUDIENDO REVOCARLO EN CUALQUIER MOMENTO

Nombre del participante

Firma del participante

Lugar

Fecha

Le he explicado el estudio de investigación al participante y he contestado todas sus preguntas. Considero que comprendió la información descrita en este documento y libremente da su consentimiento a participar en este estudio de investigación.

Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

Testigo

Nombre

Dirección

Relación con el participante

Firma

2. Operativización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Unidad de medida
DM2	Diagnóstico previo de diabetes mellitus	G0 No DM2 G1 <7.5 G2 >7.5	Independiente Categorica	(mg/dl)

Marcadores de oxidación y anti oxidación

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Unidad de medida
Óxido nítrico	Medición total. Control de calidad por curva de calibración	Marcador de radicales libres	Cuantitativa continua	(μ mol/L)
Productos de la oxidación tardía de las proteínas (AOPP)	Medición total. Control de calidad por curva de calibración	Marcador de oxidación de las proteínas	Cuantitativa continua	(nmol/L)
Productos avanzados de la glucosilación de las proteínas (AGES) (UAF)	UAF: Unidades arbitrarias de fluorescencia	Marcador de la glucosilación de proteínas y otras moléculas biológicas	Cuantitativa continua	(μ mol/L)
Tioles (GSH)	Medición total. Control de calidad por curva de calibración.	Marcador de antioxidación	Cuantitativa continua	(μ mol/ml)
Vitamina C	Medición total. Control de calidad por curva de calibración	Se utiliza para determinar la capacidad antioxidante del suero. Se determina en términos de ácido ascórbico	Cuantitativa continua	(μ mol/ml)
Superóxido dismutasa	Medición total. Control de calidad por curva de calibración	Actividad enzimática de una enzima antioxidante	Cuantitativa continua	(U/ml)

Variables clínicas y demográficas

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Unidad de medida
----------	-----------------------	------------------------	------------------	------------------

Sexo	Sexo biológico	Hombre o mujer	Dicotómica	
Edad	Edad cronológica	Número de años cumplidos	Cuantitativa continua	(años)
Estatura		Altura en metros	Cuantitativa continua	(m)
Peso		Peso en kilogramos	Cuantitativa continua	(kg)
Índice de masa corporal		Calculada en base a la estatura y el peso	Cuantitativa continua	(Kg/m ²)
Presión arterial sistólica (PAS)	Fuerza que ejerce la sangre que circula contra las paredes de las arterias	Medida en milímetros de mercurio	Cuantitativa continua	(mmHg)
Presión arterial diastólica (PAD)	Fuerza que ejerce la sangre que circula contra las paredes de las arterias	Medidas en milímetros de mercurio	Cuantitativa continua	(mmHg)
Presión arterial media (PAM)	Fuerza que ejerce la sangre que circula contra las paredes de las arterias	Calculada con base en las PAS y PAD en milímetros de mercurio	Cuantitativa continua	(mmHg)

Variables bioquímicas generales

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Unidad de medida
Urea en suero	Substancia tóxica resultante de la degradación de sustancias nitrogenadas	Medición total. Control de calidad por curva de calibración	Cuantitativa continua	(mg/dl)
Creatinina sérica	Producto del catabolismo de las proteínas	Medición total. Control de calidad por curva de calibración	Cuantitativa continua	(mg/dl)
Ácido úrico en suero	Producto de la	Medición total. Control	Cuantitativa continua	(mg/dl)

	degradación de las purinas, puede servir de marcador de daño renal y también de antioxidación	de calidad por curva de calibración		
Hemoglobina	Proteína constitutiva de los eritrocitos utilizada para evaluar pérdida de sangre	Medición total. Control de calidad por curva de calibración	Cuantitativa continua	(mg/dl)
Colesterol en suero	Esterol (lípidos) que se encuentra en los tejidos corporales y en el plasma sanguíneo. En altas concentraciones promueve la formación de placas ateromatosas	Medición total. Control de calidad por curva de calibración	Cuantitativa continua	(mg/dl)
Triglicéridos en suero	Un tipo de lípidos, formados por una molécula de glicerol, que tiene esterificado sus tres grupos hidroxílicos por tres ácidos grasos, ya sean saturados o insaturados.	Medición total. Control de calidad por curva de calibración	Cuantitativa continua	(mg/dl)

CODIGO _____

Datos demográficos

Sexo <input type="checkbox"/> 1). Hombre <input type="checkbox"/> 2). Mujer Edad (años cumplidos) _____ Fecha de Nacimiento (día / mes / año) <table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20px; height: 20px;"></td> <td style="width: 20px; height: 20px;"></td> <td style="width: 10px; height: 20px; text-align: center;">/</td> <td style="width: 20px; height: 20px;"></td> <td style="width: 20px; height: 20px;"></td> <td style="width: 10px; height: 20px; text-align: center;">/</td> <td style="width: 20px; height: 20px;"></td> <td style="width: 20px; height: 20px;"></td> </tr> </table>			/			/			Lugar de Residencia _____ <input type="checkbox"/> 1). Urbana <input type="checkbox"/> 2). Rural Derechohabiente <input type="checkbox"/> 1). Si <input type="checkbox"/> 2). No <input type="checkbox"/> 3). No sabe Tipo de derechohabiente <input type="checkbox"/> 1). Asegurado trabajador <input type="checkbox"/> 2). Beneficiario Institución <input type="checkbox"/> 1). IMSS	Ocupación <input type="checkbox"/> 1). Agricultor Obrero <input type="checkbox"/> 2). Empleado <input type="checkbox"/> 3). Negocio propio <input type="checkbox"/> 4). Hogar <input type="checkbox"/> 5). Estudiante <input type="checkbox"/> 6). Jubilado Pens <input type="checkbox"/> 7). Desempleado Estado civil <input type="checkbox"/> 1). Soltero <input type="checkbox"/> 2). Casado <input type="checkbox"/> 3). Viudo <input type="checkbox"/> 4). Divorciado <input type="checkbox"/> 5). Unión libre
		/			/					
Nacionalidad <input type="checkbox"/> 1). Mexicana <input type="checkbox"/> 2). Otra Lugar de Nacimiento _____ <input type="checkbox"/> 1). Urbana <input type="checkbox"/> 2). Rural										

Socioeconómicos

Escolaridad <input type="checkbox"/> 1). Ninguna <input type="checkbox"/> 2). Primaria <input type="checkbox"/> 3). Secundaria <input type="checkbox"/> 4). Preparatoria <input type="checkbox"/> 5). Técnica <input type="checkbox"/> 6). Profesional <input type="checkbox"/> 7). Posgraduado	Ingreso Mensual Familiar <input type="checkbox"/> 1). Menor de 1000 <input type="checkbox"/> 2). de 1001 a 5000 <input type="checkbox"/> 3). de 5001 a 10000 <input type="checkbox"/> 4). de 10001 a 15000 <input type="checkbox"/> 5). mayor de 15001	Actividad física <input type="checkbox"/> 1). Ninguna Sedentario <input type="checkbox"/> 2). Muy baja <input type="checkbox"/> 3). Baja media <input type="checkbox"/> 4). Media <input type="checkbox"/> 5). Media alta <input type="checkbox"/> 6). Alta
--	---	---

Antecedentes heredofamiliares

Sus padres han padecido de <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 1). Enfermedades cardíacas <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 2). Hipertensión arterial <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 3). Diabetes mellitus <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 4). Enfermedades pulmonares <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 5). Enfermedades renales <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 6). Tumores o cáncer <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 7). Enfermedades Mentales <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 8). Enfermedades nerviosas	Sus hermanas (os) han padecido de <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 1). Enfermedades cardíacas <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 2). Hipertensión arterial <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 3). Diabetes mellitus <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 4). Enfermedades pulmonares <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 5). Enfermedades renales <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 6). Tumores o cáncer <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 7). Enfermedades Mentales <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 8). Enfermedades nerviosas
--	---

Dx. de Ingreso

Dx. de Egreso

Medicamentos en el último mes (Dosis y frecuencia)

CODIGO _____

Antecedentes personales

<p>Patologías</p> <p><input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 1). Insufic. Renal <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 2). Insufic. Cardiaca <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 3). A Vasc. Cerebral <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 4). Cardio Isquémico <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 5). Enf. Pulmonar <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 6). Tumor o Ca. <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 7). Enf. Mentales <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 8). Enf. Sist. Nervioso <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 9). AltOsteo-Musculares <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 10). Alt. Visuales <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 11). Alt. Auditivas <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 12). Cirugías</p> <p>Transfusiones</p> <p><input type="checkbox"/> 1). Si. <input type="checkbox"/> 2). No <input type="checkbox"/> 3). No sabe</p> <p>Fecha de la última: ____/____/____ día mes año</p>	<p>En caso de mujeres: FUM ____/____/____ día mes año</p> <p>Embarazos</p> <p><input type="checkbox"/> 1). Si <input type="checkbox"/> 2). No</p>
---	---

Antecedentes personales

<p>Diabetes mellitus</p> <p><input type="checkbox"/> 1) Si <input type="checkbox"/> 2) No <input type="checkbox"/> 3) No sabe</p> <p>Tx de DM</p> <p><input type="checkbox"/> 1) Si, sin tratamiento <input type="checkbox"/> 2) Si, con tratamiento oral y sin insulina <input type="checkbox"/> 3) Si, con tratamiento con insulina</p> <p>Tiempo de evolución desde el Dx por un médico:</p> <p><input type="checkbox"/> 1). Menos de 2 años <input type="checkbox"/> 2). 2.1 a 4.11 años meses <input type="checkbox"/> 3). 5 a 9.11 <input type="checkbox"/> 4). 10 a 14.11 <input type="checkbox"/> 5). 15 a 19.11 <input type="checkbox"/> 6). mas de 20 años</p>	<p>HTA</p> <p><input type="checkbox"/> 1) Si <input type="checkbox"/> 2) No <input type="checkbox"/> 3) No sabe</p> <p><input type="checkbox"/> 1) HAS sin control <input type="checkbox"/> 2) HAS controlada</p> <p>Tiempo de evolución desde el Dx por un médico:</p> <p><input type="checkbox"/> 1). – de 2 años <input type="checkbox"/> 2). 2.1 a 4.11 <input type="checkbox"/> 3). 5 a 9.11 <input type="checkbox"/> 4). 10 a 14.11 <input type="checkbox"/> 5). 15 a 19.11 <input type="checkbox"/> 6). + de 20</p>	<p>Hipercolesterolemia</p> <p><input type="checkbox"/> 1) Si <input type="checkbox"/> 2) No <input type="checkbox"/> 3) No sabe</p> <p><input type="checkbox"/> 1) Si, sin tratamiento <input type="checkbox"/> 2) Si, con tratamiento</p> <p>Tiempo de evolución desde el Dx por un médico</p> <p>_____ años</p> <p>Síntomas y signos encontrados:</p> <p><input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 1). Cefalea <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 2). Palpitaciones <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 3). Visión borrosa <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 4). Disnea <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 5). Dolor Precord <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 6). Sin síntomas</p>
<p><input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 1). Bajo peso al nacimiento <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 2). Enfermedades autoinmunes <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 3). Infecciones sistémicas <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 4). Infecciones urinarias <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 5). Litiasis renal <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 6). Obstrucción de las vías urinarias bajas <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 7). Fármacos nefrotóxicos</p>	<p><input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 1). Proteinuria persistente <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 1). Obesidad para la edad</p>	

CODIGO _____

Exploración física

Temperatura axilar (°C) [][] [] [] Frecuencia cardiaca (lat/min) [][] Frecuencia respiratoria (Resp/min) [][]] P. Arterial Sistólica (mmHg) [][] [] [] P. Arterial Diastólica ((mmHg) [][] [] [] P. Arterial Media (mmHg) [][] [] [] Presión de pulso (PAS - PAD, mmHg) [][] [] []	Estatura (cm) [][] [] [] Peso (kg) [][] [] [] IMC (kg/m2) [][] [] [] Diámetro del cuello (cm) [][] [] [] Diámetro de la cintura (cm) [][] [] [] Diámetro de la cadera (cm) [][] [] [] Relación Cint/Cad [][] [] [] Porcentaje de grasa [][] [] [] Peso magro [][] [] [] Peso magro seco [][] [] []	Valoración nutricional según índice de masa corporal (IMC): [] Bajo peso (- de 19.8) [] Normopeso (de 19.8 a 26) [] Sobrepeso (de 26.1 a 29) [] Obeso (+ de 29) Niveles de presión arterial encontrada al ingreso.
--	---	---

Datos de laboratorio

Hemoglobina [][] [] [] [] [] g/dL Hematocrito [][] [] [] % Glucosa sérica [][] [] [] [] mg/dL Urea [][] [] [] [] mg/dL Ac. Úrico [][] [] [] [] mg/dL Creatinina [][] [] [] [] mg/dL Colesterol [][] [] [] [] mg/dL HDL - C [][] [] [] [] mg/dL LDL - C [][] [] [] [] mg/dL VLDL mg/dL Triglicéridos [][] [] [] [] mg/dL Proteínas totales [][] [] [] [] mg/dL Albúmina [][] [] [] [] mg/dL Globulina [][] [] [] [] mg/dL Rel. Alb/Glob Bilirrubina total [][] [] [] [] mg/dL Bilirrubina directa [][] [] [] [] mg/dL % saturación transferrina Ferritina..... Gasometría (pH/pCO2/HCO3):	Bilirrubina indirecta [][] [] [] [] [] mg/dL Transaminasa oxalacética (AST, TGO) [][] [] [] [] U/L Transaminasa pirúvica (ALT, TGP) [][] [] [] [] U/L GGT [][] [] [] [] U/L Deshidrogenasa láctica [][] [] [] [] U/L Fosfatasa Alca [][] [] [] [] U/L Fosfatasa Acida [][] [] [] [] U/L CPK [][] [] [] [] U/L Amilasa [][] [] [] [] U/L Lipasa [][] [] [] [] U/L Sodio [][] [] [] [] mEq/L Potasio [][] [] [] [] mEq/L Cloro [][] [] [] [] mEq/L Calcio [][] [] [] [] mg/dL Fosforo [][] [] [] [] mg/dL Magnesio [][] [] [] [] mg/dL PTH pg/dl Proteinuria Hematuria
--	---

Datos de laboratorio

EGO Proteínas totales [][] [] [] [] mg/dL Albúmina [][] [] [] [] mg/dL ProtUrin 24 h [][] [] [] [] mg/dL Creatinina [][] [] [] [] mg/dL Volumen [][] [] [] [] mg/dL Vol/min. Dep Creat [][] [] [] [] mg/dL Glucosa [][] [] [] [] mg/dL Albúmina [][] [] [] [] mg/dL Ac. Úrico [][] [] [] [] mg/dL Osmolaridad [][] [] [] [] mOsm/Kg EOx AGEs [][] [] [] [] UAF MDA [][] [] [] [] uM NOx [][] [] [] [] uM AOPP [][] [] [] [] uM H2O2 [][] [] [] [] uM Carbonilos [][] [] [] [] uM DC [][] [] [] [] uM/L	AOx Tioles [][] [] [] [] mM Vit C [][] [] [] [] mg/dL Ac. Úrico [][] [] [] [] mg/dL SOD [][] [] [] [] UI Catalasa [][] [] [] [] UI Otros IL-1 [][] [] [] [] UI IL-6 [][] [] [] [] UI TNF-a [][] [] [] [] UI TGF-b [][] [] [] [] UI Endotelina [][] [] [] [] UI PCR [][] [] [] [] UI E-CAM-1C [][] [] [] [] UI VCAM-1 [][] [] [] [] UI BNP [][] [] [] [] UI Troponina [][] [] [] [] ng/mL
---	---