

ESTRÉS OXIDATIVO Y *DIABETES MELLITUS**

José Víctor Calderón Salinas¹, Elvia Guadalupe Muñoz Reyes²,
Martha Angélica Quintanar Escorza²

¹Departamento de Bioquímica, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados. Av. IPN 2508, Zacatenco, Delegación Gustavo A. Madero, AP 14-740 México 07000 D.F. ²Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina y Nutrición, Universidad Juárez del Estado de Durango, Av. Universidad y Fanny Anitúa S/N, Durango, Dgo. Mex. C.P. 34000. Correo E: marthaquintanar@gmail.com, jcalder@cinvestav.mx

RESUMEN

Son muchas las enfermedades que se asocian con estrés oxidativo, la *diabetes mellitus* no es la excepción. Sin embargo, son pocas las enfermedades que cumplen los criterios para considerarse como enfermedad oxidativa. El empleo de diferentes modelos que estudian los efectos del incremento de la concentración de glucosa ha permitido proponer que los procesos oxidativos están involucrados con la patogénesis, la progresión, las complicaciones y el mal pronóstico de la *diabetes mellitus*. Los datos experimentales son sólidos y a pesar de lo complejo y variado de las reacciones que se inducen debido al incremento de la concentración de glucosa, se han logrado conocer diversos mecanismos de daño que involucran directa o indirectamente oxidantes y en los que participa el *estatus* antioxidante. La sobreproducción de especies reactivas de oxígeno producidas por el incremento de la actividad de la cadena transportadora de electrones, la autooxidación de la glucosa, la vía del sorbitol, la glicación de proteínas, los productos de glicación avanzada, el gasto excesivo de cofactores reducidos; aunado a la reducción de las defensas antioxidantes, la capacidad redox de la célula y la capacidad amortiguadora antioxidante, genera un estado pro-oxidante que condiciona el daño oxidativo a proteínas, lípidos, ácidos nucleicos y carbohidratos, lo cual puede contribuir en diferentes formas al desarrollo de las diferentes manifestaciones de la enfermedad del paciente diabético. Sin embargo, a pesar de los avances en modelos y mecanismos de daño, no se ha tenido aún información científica suficientemente sólida para que el tratamiento antioxidante se integre a las recomendaciones oficiales de agencias internacionales en el tratamiento de la *diabetes mellitus* y sus complicaciones.

ABSTRACT

Many diseases are associated with oxidative stress, diabetes mellitus is no exception. However, there are few diseases that meet the criteria for being oxidative disease. The study the effects of increased glucose concentration in different models has led to propose that oxidative processes are involved in the pathogenesis, progression, complications and poor prognosis of diabetes mellitus. Experimental data are solid and despite the complex and varied reactions that are induced due to the increased glucose concentration various mechanisms of damage that directly or indirectly involve oxidants and participates in antioxidant status has been established. The overproduction of reactive oxygen species produced by increasing the activity of the electron transport chain, the autoxidation of glucose, sorbitol pathway, the glycation of proteins, advanced glycation products, the excessive expense of reduced cofactors; coupled with the reduction of antioxidant defenses, the capacity of the cell redox buffering capacity antioxidant and generates a pro-oxidant conditions oxidative damage to proteins, lipids, nucleic acids and carbohydrates, all of which can contribute in different ways to development of different disease manifestations of diabetic patients. However, despite advances in models and mechanisms of injury, has not yet had enough solid scientific information that antioxidant treatment is integrated with official recommendations of international agencies in the treatment of diabetes mellitus and its complications.

PALABRAS

CLAVE:

Glicación, sorbitol, cadena respiratoria, auto-oxidación, hiperglicemia.

KEY WORDS:

Glycation, sorbitol, respiratory chain, autoxidation, hyperglycemia.

INTRODUCCIÓN

La *diabetes mellitus* (DM) puede clasificarse en tipo 1 (DM1), tipo 2 (DM2), gestacional (DG) y otros tipos específicos de *diabetes mellitus* (DM3) (1).

La *diabetes mellitus* tipo 2 (DM2) es la forma más frecuente de diabetes, incluye a más del 90% de todos los diabéticos (2). La DM2 está asociada frecuentemente con la reducción de la sensibilidad a la insulina en los tejidos blanco la que es identificada como resistencia a insulina (1).

La DM2 es uno de los principales problemas de salud a nivel mundial y por sus consecuencias se sitúa como una de las más frecuentes causas de morbi-mortalidad. La Federación Internacional de Diabetes estima que 366 millones de personas alrededor del mundo tienen DM y se espera que para el 2030 estas cifras aumenten a 552 millones de personas, lo cual equivale aproximadamente a 14 millones de casos nuevos cada año (2).

En México, de acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición-2012 (ENSANUT-2012) (3) la proporción de adultos con diagnóstico médico previo de DM fue de 9.2%, lo que muestra un incremento de 2.2 puntos porcentuales con respecto a la ENSANUT-2006 (7%). Este hecho es muy importante en términos de la demanda por servicios de salud que actualmente ocurre en el sistema de salud y es indicativo de la gravedad del problema que representa la DM2 en México (3).

La DM2 es una enfermedad compleja en la que coexiste un trastorno global del metabolismo que incluye a los carbohidratos, los lípidos y las proteínas (4). Es un síndrome orgánico multisistémico con diferentes características genofenotípicas, con una predisposición genética y defectos genéticos en la secreción y la acción de la insulina, la cual se encuentra influida adicionalmente por múltiples factores que intervienen en su etiopatogenia y su evolución, tales como: la edad avanzada, el consumo excesivo de calorías, el sobrepeso, la presencia de adiposidad central y la vida sedentaria. La principal característica de la DM es la hiperglucemia, la cual resulta de defectos en la secreción de la insulina, la resistencia celular a la acción de la misma o ambas, generándose por una alteración inflamatoria de las células β del páncreas o por una resistencia a la acción de la insulina en diferentes tejidos (1).

La evolución de la DM viene marcada por un desarrollo lento y una presentación clínica inicialmente poco clara, pero que evoluciona a notables complicaciones crónicas, tales como: cardiopatía isquémica, enfermedad cerebrovascular, vasculopatía periférica, alteraciones macrovasculares ateroscleróticas, retinopatía, nefropatía, neuropatía somática y autonómica. Todas ellas relacionadas directa o

indirectamente con la elevada morbi-mortalidad que presenta la DM (5, 6).

Daño oxidativo y su asociación con *diabetes mellitus*

El daño oxidativo se presenta cuando hay un crecimiento de la concentración de moléculas oxidantes, sean endógenas o exógenas, o cuando se tiene una condición de reducción de las defensas antioxidantes. Las enfermedades metabólicas, como la DM, tienen grades posibilidades de tener una participación de elementos oxidativos en su génesis, evolución o complicaciones ya que pueden generar estados oxidantes o afectar la generación o la eficiencia de recuperación de los mecanismos antioxidantes (7).

Sin embargo, para poder calificar la participación oxidativa en una enfermedad se requiere que se presenten diferentes requisitos de asociación que frecuentemente no se cumplen, lo que no permite calificarla como una enfermedad oxidativa y en tal caso no se puede recomendar la terapia antioxidante como factor de prevención o para evitar o retardar la evolución de la propia enfermedad. Para poder hacer la asociación se requiere que el agente oxidante se encuentre y se detecte en el sitio del daño, que exista una correlación lógica entre la generación del oxidante y el daño, que al retirar el agente oxidante se reduzca o desaparezca el daño y que los agentes antioxidantes sean capaces de disminuir el daño. Una buena cantidad de enfermedades se encuentran en fase de exploración para asignarlas o no como enfermedad oxidativa, para las cuales se siguen investigando los mecanismos de daño oxidativo, la participación de agentes pro-oxidantes, valorando el desarrollo, persistencia y características del estrés oxidativo y la respuesta antioxidante e investigando los efectos benéficos del empleo de diferentes esquemas y agentes para establecer terapias antioxidantes y lograr obtener, de ser el caso, los protocolos de recomendación terapéutica y diagnóstica, en tal caso se encuentra la DM (4).

A pesar de que existen evidencias experimentales que sugieren que el estrés oxidativo puede determinar el inicio y la progresión de las complicaciones tardías de la DM, todavía hay controversia sobre si el incremento de este fenómeno sólo es asociativo y no causal. Cada vez hay más evidencias que muestran que pacientes con DM presentan un aumento en el estrés oxidativo y los procesos de inflamación, siendo mayores en aquellos que presentan complicaciones propias de la patología, caracterizadas por una disminución en la actividad de los sistemas antioxidantes y un incremento de los productos de oxidación (8, 9, 10).

La pérdida de balance en el equilibrio pro-oxidante/antioxidante que se ha observado en la DM puede explicar el daño oxidativo que presentan las macromoléculas, dando lugar a alteraciones oxidativas en el DNA, las proteínas y los lípidos (11). De igual forma las deficiencias en los sistemas antioxidantes se han asociado con un incremento en el riesgo de las complicaciones de la DM (12) y por lo anterior se ha propuesto la evaluación de la actividad de las enzimas antioxidantes y la lipoperoxidación en la sangre como marcadores de riesgo de microangiopatías en pacientes con DM (13).

Por otra parte se ha encontrado que un incremento en el daño oxidativo en nefronas de pacientes con DM puede inducir apoptosis a las células de los epitelios tubulares y las células endoteliales del glomérulo y contribuir al desarrollo de la nefropatía diabética (14), por lo que se ha propuesto que puede existir una asociación entre los marcadores de estrés oxidativo y la enfermedad renal avanzada (15).

Aun con todo lo anterior no se ha podido dilucidar si la DM cursa con una fase oxidante durante su fisiopatología y se incrementa con la aparición de complicaciones o si el daño oxidativo es parte de la etiopatología de la DM y contribuye a la evolución de sus complicaciones.

Por lo anterior, es importante entender los mecanismos que se han propuesto de la generación de daño oxidativo en la fisiopatología de la DM y cómo algunos de ellos pueden llevar a complicaciones importantes, dejando para otro momento la discusión de si es el daño oxidativo un factor que condiciona para la aparición de DM o solamente un factor que lo acompaña y puede generar complicaciones.

Mecanismos implicados en el daño oxidativo y la *diabetes mellitus*

Se han propuesto varios mecanismos para explicar cómo es que la hiperglicemia en general y el estado metabólico propio de la DM en particular pueden generar daño y estrés oxidativo en órganos cuyas células no dependen prioritariamente de la insulina para la entrada de la glucosa, como son las células endoteliales, las neuronas, las células renales, entre otras. Varias de estas propuestas serán presentadas y analizadas en los siguientes apartados.

El metabolismo de la glucosa y la formación de especies reactivas de oxígeno

La formación de las especies reactivas de oxígeno (ERO) es inherente al metabolismo aeróbico por

medio del cual se obtiene energía de las diferentes moléculas en las células y en este sentido la glucosa no es la excepción; aún más, la glucosa es la principal molécula que se oxida para dar energía y la más abundante en la célula y en el organismo para fines metabólicos.

En el metabolismo las ERO son producto de una reducción parcial del oxígeno, los electrones que adquiere son donados anómalamente por reacciones oxido-reductoras que lo reducen parcialmente por error, la reducción del oxígeno en el metabolismo es un paso necesario, indispensable, pero esos electrones adecuadamente otorgados, deberían de reducir el oxígeno hasta agua con la combinación de dos protones en la reacción. La reducción parcial da lugar a las más frecuentes ERO, el radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), el radical hidroxilo (OH^{\cdot}), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), siendo los dos primeros radicales libres, llamados así por contener electrones desapareados.

El metabolismo energético de la célula (catabolismo) es eminentemente oxidativo y se basa en la pérdida de electrones de las moléculas metabolizadas (oxidación), electrones que se acumulan en los equivalentes reductores, cofactores reducidos ($NADH + H^+$ y $FADH_2$), que alimentan con electrones a la cadena respiratoria, donde dichos electrones viajan a lo largo de la cadena (complejos I ó II, complejo III y complejo IV); por reacciones de óxido-reducción para llegar al aceptor final de los mismos que en este caso es el oxígeno, el cual en la parte final del complejo IV de la cadena transportadora de electrones, el citocromo- A_3 , cataliza la reacción que permite reducir al oxígeno, quien acepta los electrones y dos protones para formar agua (Fig. 1).

El flujo de electrones por la cadena respiratoria, genera la energía necesaria para inducir el paso de protones de la matriz mitocondrial al espacio intermembranal de la mitocondria, con lo que se produce un potencial protomotriz con mayor concentración fuera que dentro de la matriz mitocondrial y de esta forma un potencial negativo en la membrana interna mitocondrial. Esta energía potencial se puede dirigir por el paso de protones del espacio intermembranal a la matriz a través del complejo de la ATP-sintetasa que acopla la entrada de protones con la síntesis de ATP, transformando la energía del transporte dada por el potencial protomotriz en energía química para la síntesis del ATP (Fig. 1).

Otros sistemas de transporte también pueden utilizar el gradiente de protones para poder realizar un trabajo, por ejemplo el transporte de ortofosfato (Pi) al interior de la matriz mitocondrial, aprovechando la energía del paso de protones para realizar

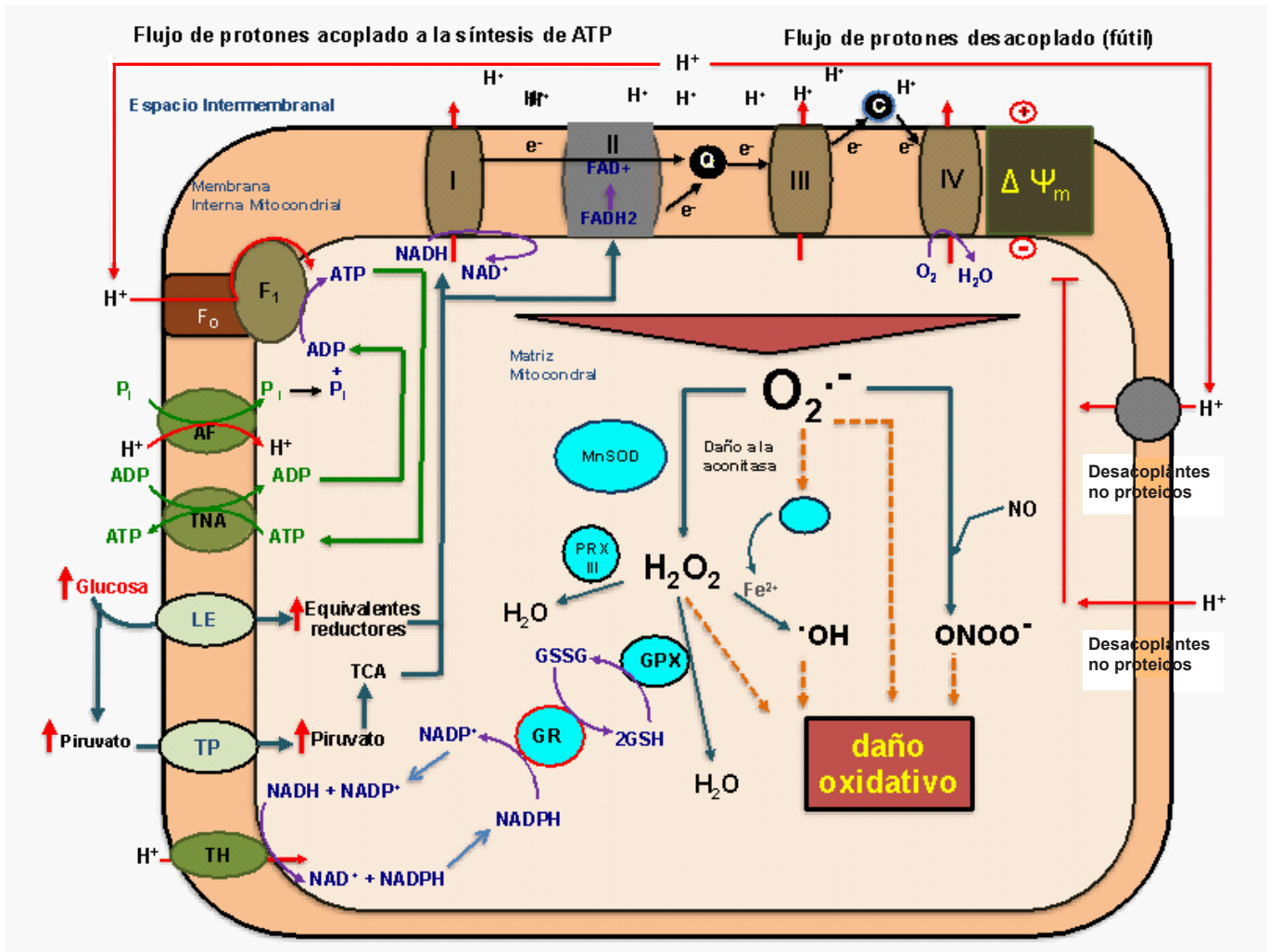


Figura 1. Modelo propuesto para explicar la participación de la mitocondria en la inducción de daño oxidativo debido a hiperglucemia. La mitocondria tiene una alta concentración de equivalentes reductores ($\text{NADH} + \text{H}^+$ y FADH_2) provenientes de la glucólisis y que entran a la mitocondria a través de lanzaderas de electrones (LE) y por el aumento de la actividad del ciclo de los ácidos tricarbóxicos (TCA), alimentado por la descarboxilación de las grandes concentraciones de piruvato que ingresa a la mitocondria a través de su transportador (TP). La energía generada por el paso de electrones en la cadena respiratoria (complejos I, II, III y IV) que termina en la formación de H_2O a partir de O_2 es usada para el bombeo de protones (H^+) desde la matriz mitocondrial hacia el espacio intermembranal generando un gradiente de protones y un incremento en el potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\Psi_m$). La fuerza del flujo de protones al entrar puede acoplarse por el complejo de la ATP sintetasa (F_0/F_1) y permite la formación de ATP con ADP que proviene del citoplasma por el intercambiador ADP/ATP, también llamado transportador de nucleótidos de adenina (TNA) y con fosfato inorgánico (P_i) que llega a la matriz por medio del acarreador de fosfatos (AF) que también aprovecha la energía de entrada de los protones. Los protones también pueden entrar en una forma fútil a partir de los llamados desacoplantes químicos y las proteínas desacoplantes (PD) que permiten el ingreso de H^+ a la matriz mitocondrial generando calor y reduciendo el $\Delta\Psi_m$. El transporte de electrones en la cadena respiratoria inducen también la formación del radical superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) como producto secundario indeseable que da lugar a daño oxidativo y a una serie de reacciones que pueden generar más especies reactivas de oxígeno y más daño oxidativo. El $\text{O}_2^{\cdot-}$ generado puede seguir las siguientes vías: reaccionar con óxido nítrico (NO) para formar peroxinitrito (ONOO^-); transformarse por la superóxido dismutasa (MnSOD) en peróxido de hidrógeno (H_2O_2); atacar el centro hierro-azufre FeS de la aconitasa liberando hierro ferroso (Fe^{2+}). El Fe^{2+} y H_2O_2 pueden reaccionar formando el radical hidroxilo ($\cdot\text{OH}$). Todas estas especies reactivas de oxígeno ($\text{O}_2^{\cdot-}$, ONOO^- , H_2O_2 y $\cdot\text{OH}$) pueden generar daño oxidativo. La mitocondria también tiene defensas antioxidantes, las cuales incluyen la propia MnSOD que reduce al $\text{O}_2^{\cdot-}$ a H_2O_2 , mismo que es reducido a su vez por la glutatión peroxidasa (GPX) y peroxirredoxina III (PRX III). El glutatión oxidado (GSSG), se transforma en glutatión reducido (GR) por la acción de la glutatión reductasa que emplea electrones del $\text{NADPH} + \text{H}^+$ que a su vez se reduce a partir de su forma oxidada (NADP^+) gracias a una transhidrogenasa (TH) que toma energía del gradiente de protones y electrones del $\text{NADPH} + \text{H}^+$ (Modificada de referencia 16).

un transporte en contra de gradiente llamado transporte activo secundario (Fig. 1). Evidentemente la entrada de los protones por estos sistemas acoplados disipa el gradiente protomotriz y reducen el potencial de la membrana interna mitocondrial de manera acoplada, lo que permite aprovechar la energía de él derivado, es decir que se puede transformar la energía quimiosmótica en energía química utilizando el gradiente protomotriz (16).

El potencial protomotriz también puede ser disipado de manera fútil, pasando por desacoplantes químicos que con la protonación de la molécula pueden pasar al interior de la matriz y al desprotonarse en su interior hacen las veces de transportadores de protones (lanzaderas) o a través de proteínas desacoplantes que son canales de protones y que generan calor con la entrada de protones a la matriz mitocondrial. Estos desacoplantes reducen el potencial de membrana y el gradiente protomotriz, acelerando la cadena respiratoria, aun cuando toda esta energía no se aprovecha, sino para producir calor (Fig. 1). Algunos de estos sistemas naturales o farmacológicos se han revalorado recientemente por sus posibilidades de participación en la obesidad y en el tratamiento de la misma y de la resistencia a la insulina (17).

Si bien es posible obtener las ERO en varias reacciones oxidativas de la glucólisis y del ciclo de los ácidos tricarboxílicos, sin duda la mayor probabilidad de generar estas especies está en la cadena transportadora de electrones, donde se tiene la energía libre y el potencial redox adecuado para poder reducir parcialmente al oxígeno y con ello generarlas. De manera especial se ha considerado la reacción oxidorreductora del paso de electrones del complejo I o II por la coenzima-Q hacia el complejo III en donde se puede reducir parcialmente al oxígeno y generar el radical $O_2^{\cdot-}$. Esta reacción es sin duda la más frecuente e importante para generar $O_2^{\cdot-}$, sin embargo otros elementos de la cadena respiratoria como son los complejos I, II y III también pueden producirlo (Fig. 1) (16). Otros sistemas de oxidación y la acción de la célula para eliminar al $O_2^{\cdot-}$ terminan por generar otros productos de reducción parcial, otras ERO como el OH^{\cdot} y el H_2O_2 , mismos que si no son eliminados por el sistema amortiguador antioxidante terminan por causar daño oxidativo.

En tal forma es claro que de manera secundaria a la acción fisiológica del metabolismo catabólico y como resultado de productos secundarios indeseables de la oxidación inherente para degradar, obtener y producir energía en el organismo, se genera una cantidad de las ERO, sin necesidad de invocar nada patológico o externo.

Evidentemente el incremento de la actividad

metabólica a cualquier escala, viene aparejada con un incremento proporcional de la cantidad de las ERO formadas de manera secundaria. Sin embargo, cuando esta actividad metabólica se incrementa muy por arriba de las condiciones fisiológicas (estrés metabólico) el incremento de la formación de especies reactivas no se suma sino que se potencia, dado que en condiciones de un incremento notable del potencial de la membrana interna mitocondrial, debido a una acumulación excesiva de protones en el espacio intermembranal, se incrementa la permanencia, tiempo y posibilidad de reducir parcialmente el oxígeno en los diferentes puntos de la cadena respiratoria y no solamente en el complejo IV para formar agua ante la reducción total de oxígeno con la consecuente aparición de concentraciones exponencialmente mayores de $O_2^{\cdot-}$, como subproducto indeseable y que podrá inducir daño oxidativo.

En tal sentido el estrés metabólico, el energético, el respiratorio, el infeccioso, un incremento en la ingesta de nutrientes o una demanda metabólica y óxido-reductora inducida por moléculas endógenas o xenobióticas generarán un incremento en la demanda del metabolismo, incrementando la actividad de la cadena transportadora de electrones y la cantidad de especies reactivas de oxígeno, aumentando la posibilidad de tener daño oxidativo.

Pero no solo las ERO se encuentran involucradas, dentro de esas reacciones de oxidación en cadena se encuentran también involucradas especies reactivas de nitrógeno (ERN), que se pueden producir por algunas enzimas óxido-reductoras o por reacciones de una ERO con componentes que contienen nitrógeno, lo que genera un radical libre o una especie reactiva de un compuesto que contiene nitrógeno.

Además de los mecanismos mencionados para la generación de ROS en la cadena transportadora de electrones, una serie de oxidasas también generan cantidades importantes de ROS, estas enzimas incluyen NADPH y NADH oxidasas, xantina oxidasa y ciclooxigenasas; también hay enzimas generadoras de RNS como la sintasa de óxido nítrico (NOS) que produce óxido nítrico (NO^{\cdot}) a partir de arginina; el NO^{\cdot} es una molécula que tiene una participación fisiológica en la célula, pero que al reaccionar con $O_2^{\cdot-}$ produce el radical peroxinitrito ($ONOO^{\cdot}$) que es una especie de nitrógeno altamente reactiva y que al igual que las ROS es capaz de dañar lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, además de consumir al NO^{\cdot} , produciendo los efectos nocivos que serán descritos adelante.

Por supuesto que la pregunta ahora es ¿Qué pasa con la producción de las ERO por la cadena transportadora de electrones en la DM?

Aumento de la glucosa en la célula y daño oxidativo en la mitocondria

El incremento de la concentración de glucosa en la célula por si sola impone una presión importante para producir mayor cantidad de las ERO, uno de esos mecanismos involucra a la mitocondria. Como se muestra en la figura 1, el incremento de la glucosa en el citoplasma produce mayor cantidad de equivalentes reductores que ingresan a la mitocondria con las lanzaderas de electrones correspondientes. A su vez, la gran cantidad de piruvato obtenido de la glucólisis puede entrar a la mitocondria por el transportador correspondiente. Una vez dentro de la mitocondria el piruvato se descarboxila dando lugar a más equivalentes reductores y permitiendo obtener la acetil-CoA en grandes cantidades que alimentará al ciclo de los ácidos tricarboxílicos (ciclo de Krebs), mismo que generará la mayor cantidad de equivalentes reductores ($\text{NADH} + \text{H}^+$ y FADH_2), los cuales alimentarán a la cadena transportadora de electrones en un proceso descrito anteriormente, lo que dará lugar a un incremento de la reducción del oxígeno para formar agua, pero también a la reducción parcial de oxígeno para dar lugar a la formación de $\text{O}_2^{\cdot-}$ y el consecuente daño oxidativo.

Es importante mencionar que debido al incremento de la entrada de glucosa, la célula tiene ahora una presión metabólica inducida por alta concentración de sustrato para alimentar en exceso a la cadena respiratoria pero sin un incremento correspondiente y proporcional en la necesidad de ATP en la célula, lo que hace que el potencial protomotriz se acumule en exceso y la cadena respiratoria pueda generar más $\text{O}_2^{\cdot-}$ que en condiciones de óptimo acople entre la formación de ATP y la función de la cadena respiratoria, en este caso el incremento de la formación de ATP o la función desacoplante pueden reducirla, pero no hay condiciones adecuadas, ya que la célula no tiene necesidades energéticas incrementadas, algunos autores ven aquí la base del incremento del metabolismo anabólico, por ejemplo el ejercicio, que permite desahogar la cantidad de protones acumulados en el espacio intermembranal de la mitocondria y parece justificar el empleo de compuestos desacoplantes o estimulantes del desacoplamiento aunado evidentemente al control de la glucosa en sangre (16).

Auto-oxidación de la glucosa

La glucosa es capaz de auto-oxidarse, lo cual sucede de manera muy abundante en condiciones de mayor concentración de glucosa en la célula. En tal condición la auto-oxidación conduce en primera

instancia a la formación de un enediol, oxidación que se presenta en el radical α -hidroxialdehído de la glucosa (Fig. 2).

El enediol en presencia de metales de transición, como el Fe^{+3} , reacciona con oxígeno y una proteína para producir un producto oxidado llamado 1,4-dideoxiglucosona-proteína lo que resulta en una proteína glicada y capaz de generar una oxidación en cadena que dará lugar a los llamados productos de glicación avanzada AGE (por las siglas del inglés: "advanced glycation and-product"), mismos que serán descritos de manera más amplia en párrafos posteriores. A partir de este compuesto se producen acetaldehídos por oxidación que siguen generando diversos productos oxidados que dañan aún más a la proteína y generan diversas reacciones de oxidación en cadena, terminando con uniones proteína-proteína que generalizan y causan más daño estructural y funcional (18).

La oxidación de estos intermediarios pueden producir la oxidación parcial de oxígeno con la consecuente formación de $\text{O}_2^{\cdot-}$, mismo que con la actividad de la enzima superóxido dismutasa se transforma en H_2O_2 y con metales de transición se puede transformar en OH^{\cdot} , todos los cuales contribuyen a la oxidación de lípidos y proteínas (Fig. 2).

No solo la auto-oxidación de la glucosa puede contribuir al estrés oxidativo, también un exceso de glucosa en las células puede generar compuestos pro-oxidantes por el exceso de la propia glucólisis.

Productos oxidativos de la glucólisis

Ya se ha mencionado antes que el incremento de la concentración de glucosa en la célula induce un incremento en la glucólisis y también en la concentración relativa de sus intermediarios.

Como se presenta en la parte central de la figura 2 el incremento de la glucólisis resulta en la formación de piruvato y con ello se aumenta la producción de acetil-CoA, lo que acelera la producción de cofactores reducidos en el ciclo de los ácidos tricarboxílicos, y finalmente aumenta la cadena respiratoria y con ello la formación como producto secundario indeseable de $\text{O}_2^{\cdot-}$, mismo que ha sido descrito con detalle en párrafos anteriores.

Sin embargo, la generación de daño oxidativo por la vía de la producción de especies reactivas de oxígeno provenientes de la cadena respiratoria no es el único mecanismo para producir daño oxidativo debido a un incremento de la actividad glucolítica. El incremento de la glucosa también puede generar productos como el glioxal y la 3-deoxiglucosa (oxoaldehídos), mismos que alteran los radicales α -hidroxialdehído de la glucosa de manera oxidativa y que dan por resultado estos compuestos, los que

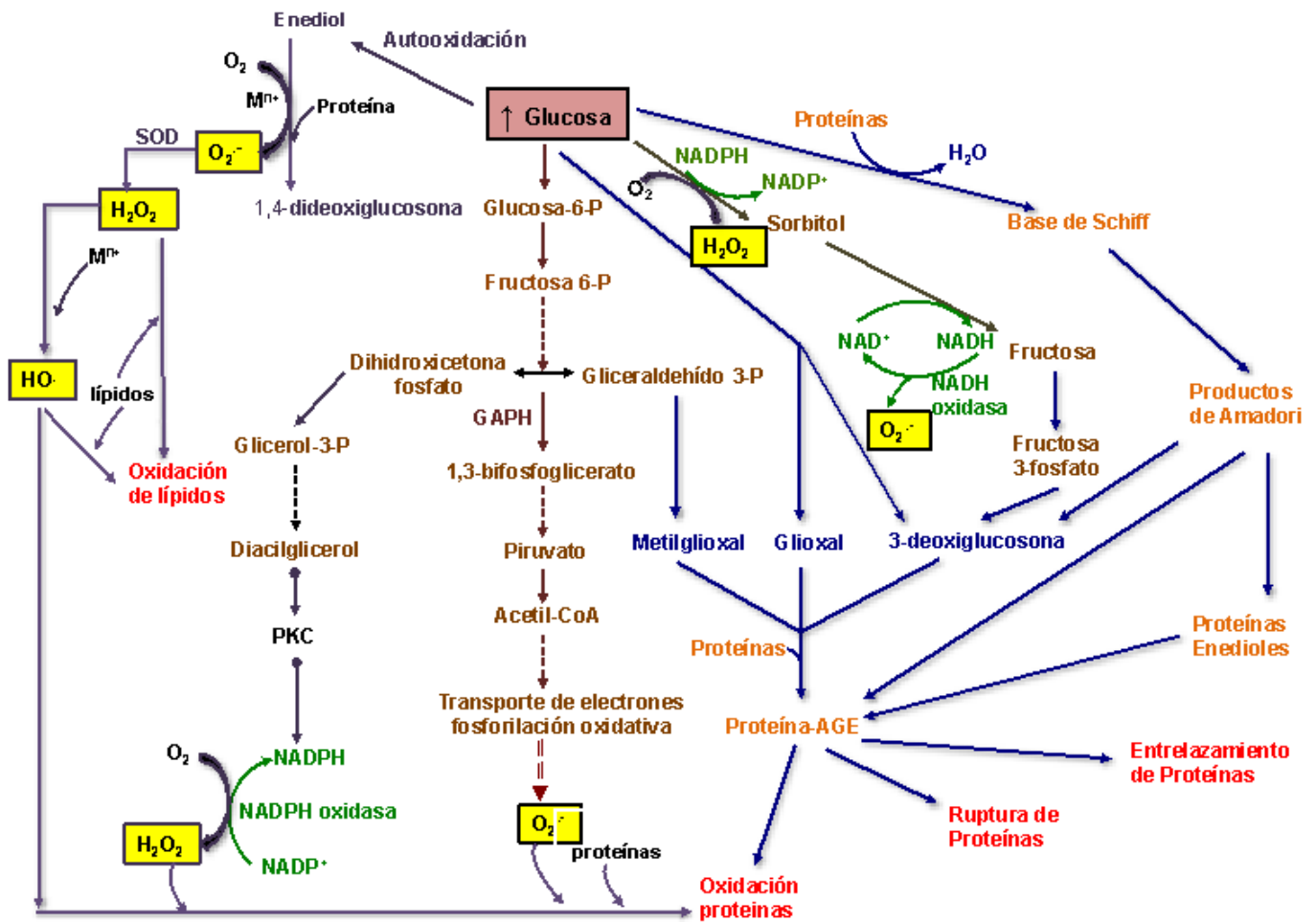


Figura 2. Esquema de algunos mecanismos propuestos para explicar cómo la hiperglucemia contribuye al daño oxidativo. En la parte superior izquierda se muestra el camino de la auto-oxidación de la glucosa por el camino del enediol, que en presencia de metales de transición (Mn^{2+}) forma el radical $O_2^{\cdot-}$, éste a su vez puede dismutarse y formar H_2O_2 que al interactuar nuevamente con (Mn^{2+}) forma el radical $HO\cdot$, todos los cuales inducen oxidación de proteínas y lípidos. En la parte superior derecha se muestra el camino de la glicación de proteínas, en este caso la glucosa se une por un enlace covalente a grupos amino de proteínas, generando productos de Amadori, los cuales al oxidarse forman productos de glicación avanzada (AGE) y en presencia de (Mn^{2+}) generan $HO\cdot$, la interacción de AGE-proteína provocan su entrecruzamiento, la ruptura y la oxidación de proteínas. La glucosa también puede formar productos de Amadori tales como 3-deoxiglucosona y glioxal por oxidación, por el camino del sorbitol (reductor), donde la glucosa es transformada por la acción secuencial de la aldosa reductasa (AR) enzima que gasta $NADPH + H^+$ y la sorbitol deshidrogenasa (SDH) enzima que al sorbitol lo convierte en fructosa con la formación de ($NADPH + H^+$). Molécula que estimula a la NADH oxidasa, con la formación de $O_2^{\cdot-}$. Estos cambios alteran la actividad de enzimas que también emplean el $NADPH + H^+$ como cofactor, tales como la glutatión reductasa y la óxido nítrico sintasa. Así mismo, a partir del gliceraldehído-3P, como se muestra en las vías centrales de la derecha. Estos productos interactúan con proteínas, para dar productos de glicación avanzada en proteínas. A su vez el incremento en dihidroxiacetona-P (vía central a la izquierda), induciendo la formación de diacilglicerol, lo que estimula la proteína cinasa C (PKC) que estimula a su vez a la NADPH oxidasa, lo que genera peróxido de hidrógeno (H_2O_2) que se suman a las especies reactivas formadas por la cadena respiratoria y oxidan en cadena lípidos y proteínas. (Modificado de referencia 35).

reaccionan fácilmente con proteínas para dar los productos de glicación avanzada de manera secundaria, con las consecuencias que serán descritas en la glicación directa, como se esquematiza en la parte derecha de la figura 2 (19).

También la acumulación de intermediarios tales como la dihidroxiacetona-P y el gliceraldehído-3-P, tienen un papel en este daño oxidativo, como se muestra en la parte central de la figura 2.

La acumulación de dihidroxiacetona-P permite que la misma se transforme a glicerol-3-P por una reducción; la acumulación de este metabolito aumenta la producción de diacilglicerol y al no haber necesidad de formar triglicéridos o fosfolípidos, este intermediario se acumula y puede funcionar como segundo mensajero, el cual al incrementar su concentración estimula la actividad de la cinasa de proteínas (PKC) y con ello la actividad de la NADPH oxidasa, que al oxidar NADPH + H⁺ reduce parcialmente al oxígeno para producir H₂O₂ mismo que es capaz de oxidar proteínas o lípidos y generar con metales de transición reacciones en cadena para generar OH• y diversos productos de oxidación en cadena (Fig. 2, parte central) (20).

Por otro lado, el gliceraldehído-3-P se puede oxidar a metilglioxal, y producir un intermediario dicarbonilo que al reaccionar con una proteína generará directamente un AGE, con las consecuencias que serán descritas en párrafos posteriores (19).

La acumulación de glucosa en la célula también puede seguir otras vías metabólicas, vías alternativas que producen la acumulación de metabolitos nocivos y que por sí mismas pueden generar gastos excesivos de poder reductor, tal es el caso de la vía del sorbitol.

Condiciones oxidativas por la vía del sorbitol

El aumento de la concentración de glucosa en la célula genera también el incremento de una vía que produce sorbitol a partir de la reducción de la glucosa (vía de polioles), la acumulación de sorbitol produce incrementos de la osmolaridad intracelular con los consecuentes daños celulares, pero este efecto no es ni con mucho el único mecanismo de daño que genera esta vía, por principio de cuentas esta reducción de glucosa a sorbitol se logra con la oxidación de NADPH + H⁺, reacción que realiza una aldol reductasa, lo que gasta capacidad reductora antioxidante y genera en la reacción la reducción parcial de oxígeno generando H₂O₂. Pero aun más, la acumulación de sorbitol puede alcanzar altas concentraciones y una vez alcanzado cierto límite se activa una vía que puede convertir el sorbitol en fructosa, a partir de una reacción oxidativa catalizada por la sorbitol deshidrogenasa que forma altas

concentraciones de NADH + H⁺ lo que activa a la enzima NADH oxidasa, que hace perder los electrones del NADH + H⁺ y produce O₂•⁻, generando un círculo vicioso que hace que se gaste poder reductor tanto del NADPH + H⁺ como del NADH + H⁺ y produciendo H₂O₂ y O₂•⁻, condicionando un mayor estado oxidativo, menor poder reductor y menor protección antioxidante (20, 21). Disminuyendo la posibilidad de regenerar la forma reducida del glutatión, vitaminas C y E, generalizando una condición caracterizada por una menor capacidad antioxidante de la célula (Fig. 2, parte derecha) (7).

Finalmente la fructosa se transforma en fructosa 3-P ante la imposibilidad de entrar a la glucólisis y la misma es transformada a 3-deoxiglucosona que es una molécula que al unirse a proteínas generará un AGE (19) con los efectos que describen a continuación (Fig. 2, parte derecha).

Glicación de proteínas y AGE

Los AGE, constituyen un grupo complejo y heterogéneo de compuestos formados por azúcares reductores unidos a residuos de proteínas, aminoácidos libres y en menor proporción con bases nitrogenadas de ácidos nucleicos. Sin embargo, los más importantes son los AGE derivados de proteínas. Ante una elevada concentración de glucosa, la misma puede reaccionar con proteínas, a este proceso se le llama glicación de proteínas y se distingue claramente del proceso donde una enzima puede insertar carbohidratos a una proteína, al que se llama glicosilación de proteínas y que tiene fines regulatorios, de identificación y señalización.

La glucosa reacciona frecuentemente con grupos amino libres, pero también puede hacerlo con grupos sulfhidrilo de las proteínas. En el caso de los grupos aminos que reaccionan con glucosa se produce una base de Schiff y la generación de los productos de Amadori que son propiamente las proteínas glicadas; los radicales de carbohidratos unidos a proteínas presentan una serie de reacciones oxidorreductoras dando lugar a radicales en forma de enediones-proteína tales como 3-deoxiglucosona-proteína, glioxal-proteína y metilglioxal-proteína (22) (Fig. 2, parte media y derecha).

Todas las reacciones de glicación no enzimática de las proteínas generan diferentes tipos de ERO durante la formación de productos de Amadori y las reacciones que desembocan en AGE (Fig. 2, parte derecha). Algunos ejemplos de AGE estables son carboximetil-lisina-proteína, carboxietil-lisina-proteína y arginin-pirimidina-proteína, sin embargo la cantidad y variedad de productos es muy grande y de muy diversas características químicas (19).

También algunos intermediarios reactivos como

el metilglioxal, el glioxal, la 3-deoxiglucosona y el enediol pueden unirse a proteínas sin necesidad de reacciones enzimáticas a los grupos amino libres de los residuos de arginina y lisina, por lo que no es necesaria la reacción inicial de la glucosa para formar la base de Schiff, aunque esa es la reacción espontánea más frecuente y que termina en AGE (Fig. 2, parte media).

Se han identificado productos de Amadori derivados de la glicación en los tejidos, siendo el más conocido la mal llamada hemoglobina glicosilada, que debería llamarse hemoglobina glicada, ya que sucede en condiciones no enzimáticas. El estudio de los incrementos en la concentración de esta proteína y de otras proteínas glicadas puede interpretarse como incrementos prolongados y sostenidos de la concentración de la glucosa en el ambiente de la proteína, teniendo valor diagnóstico y pronóstico. Otras proteínas glicadas que se identifican y pueden tener valores diagnósticos y pronósticos pueden ser: albúmina, lipoproteínas, factor de Von Willebrand y colágena, entre otras (22).

Los AGE producen una alteración funcional irreversible de la proteína, la mayoría de las veces reduciendo la actividad, las funciones, las propiedades estructurales y las interacciones proteína-proteína. Los AGE pueden causar oxidación secundaria de las proteínas, ya sea de proteínas cercanas o una auto-oxidación de la AGE-proteína. También se generan rupturas de proteínas y entrelazamiento de proteínas por medio de aductos que comparten el propio producto de glicación como elemento de enlace (proteína-AGE-proteína) o generando el enlace proteína-proteína por las alteraciones inducidas en los residuos de aminoácidos de las proteínas afectadas por los AGE, todo lo cual termina afectando la función y evidentemente la estructura de todas las proteínas involucradas (Figura 2, sección derecha).

Daños moleculares, celulares y tisulares en la DM por las ERO

Como se ha mencionado, la sobreproducción del $O_2^{\cdot-}$ producida por la auto-oxidación de la glucosa, la vía del sorbitol, la glicación, los AGE, el gasto excesivo de cofactores reducidos ($NADH + H^+$) y $NADPH + H^+$) y el incremento de la actividad de la cadena transportadora de electrones inducida por altas concentraciones de glucosa, genera daño oxidativo a proteínas, lípidos, ácidos nucleicos y reducción de las defensas antioxidantes, la capacidad redox de la célula y la capacidad amortiguadora antioxidante (Fig. 3), todo lo cual puede contribuir en diferentes formas al desarrollo de las diferentes manifestaciones de la enfermedad del paciente con DM (23).

Como se mostró anteriormente el daño oxidativo

a las proteínas tiene una bioquímica muy compleja, incluye fenómenos de nitración, carbonilación, oxidación, ruptura y el entrelazamiento. En términos generales, la modificación oxidativa de las proteínas incrementa también su susceptibilidad a la proteólisis, lo que implica una más rápida ubiquitinación y degradación en el sistema proteosómico. La cantidad de carbonilos proteínicos es el marcador más ampliamente utilizado para medir la oxidación de las proteínas y se ha sugerido como un marcador confiable de estrés oxidativo en pacientes con DM (24), encontrando que el contenido de carbonilos proteínicos en sangre se correlaciona de manera positiva con las complicaciones de la DM (25, 26). En los diabéticos, una de las proteínas que puede sufrir daño oxidativo es la propia insulina, provocando cambios químicos y estructurales en dicha hormona y con la pérdida de su actividad biológica. Se ha demostrado que el tejido adiposo humano en presencia de insulina oxidada no utiliza la glucosa con la misma eficiencia que ante la insulina nativa; el estrés carbonílico también puede afectar los receptores de insulina y a las moléculas que están implicadas en la respuesta celular a la estimulación de la insulina, generando o incrementado la resistencia periférica a la insulina (27).

El incremento de los ERO en general y del $O_2^{\cdot-}$ en particular generan un aumento de la actividad de proteína cinasa C (PKC), activando señales intracelulares de estrés metabólico y oxidativo, caracterizado por incrementos en las actividades de NF- κ B, p38, MAPK, Jak/STAT, las cuales activan diferentes vías metabólicas, encienden genes y provocan una respuesta masiva y de largo plazo. Esta condición genera un incremento de la concentración de NO^{\cdot} al estimular a la síntesis correspondiente. La señalización intracelular de estrés y el incremento de NO^{\cdot} inducen a su vez el incremento de diferentes citocinas, tales como ET1, resultando en la activación de las NADPH y NADH oxidasas, con reducciones adicionales del poder reductor y de la capacidad antioxidante total. Todo lo anterior termina incrementando en un círculo vicioso las concentraciones de ERO y en particular de $O_2^{\cdot-}$, que al reaccionar con el NO^{\cdot} en exceso da por resultado el peroxinitrilo ($ONOO^{\cdot}$) que también es un potente oxidante, generando sistemas de daño y haciendo perder NO^{\cdot} y sus efectos benéficos al sistema circulatorio. Así mismo el $O_2^{\cdot-}$ en células endoteliales puede pasar a H_2O_2 por la acción de catalasa, el cual induce apoptosis y angiogénesis patológica, con consecuencias en la arquitectura y la función vascular (Fig 3).

El NO^{\cdot} es producido a partir de arginina por la enzima NO^{\cdot} -sintasa del endotelio (eNOS). El NO^{\cdot} actúa en las células del músculo liso de los vasos sanguíneos induciendo vasodilatación por su unión

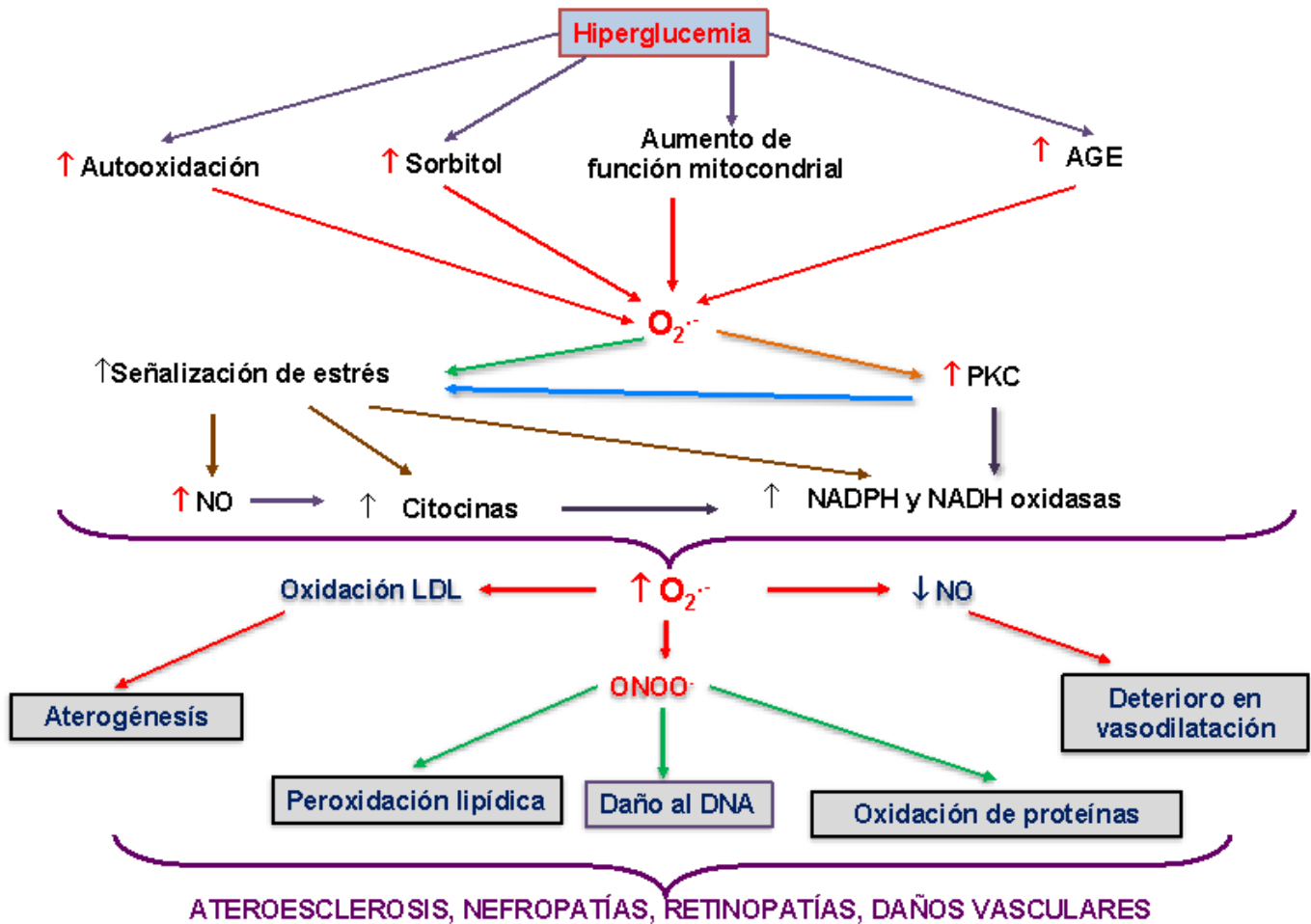


Figura 3. Modelo que propone la secuencia que relaciona la generación de especies reactivas en la diabetes con los daños vasculares, renales y neurológicos. La hiperglicemia puede conducir a un incremento en las vías de la auto-oxidación, el sorbitol, los productos de glicación avanzada y la cadena respiratoria, todas ellas llevan a generar al radical $O_2^{\bullet-}$ radical que estimula la actividad de PKC, las vías de señalización de estrés lo cual induce una mayor síntesis de óxido nítrico (NO^{\bullet}) y por lo tanto un aumento en citocina, de estrés, lo que finalmente contribuye junto con la propia señalización de estrés y la PKC a incrementar la actividad de las NADPH y NADH oxidasas. El incremento de la actividad de estas enzimas produce un incremento adicional de $O_2^{\bullet-}$ que dan por resultado un aumento en el radical peroxinitrito ($ONOO^{\bullet}$) que ocasiona daño oxidativo a lípidos, proteínas y DNA. El daño a las lipoproteínas de baja densidad (LDL) por el radical $O_2^{\bullet-}$ acelera los procesos de aterogénesis; así mismo, la disminución del NO biodisponible por su interacción con $O_2^{\bullet-}$ puede ocasionar un deterioro de la respuesta vascular de dilatación. La suma de estos procesos da por resultado la generación de daños vasculares, aterosclerosis, nefropatías, neuropatías y retinopatías. (Modificado de referencia 28).

con la guanilato ciclasa, ejerciendo también efectos antiproliferativos, inhibiendo la adhesión plaquetaria y leucocitaria al endotelio vascular, protegiendo a la circulación micro y macrovascular. Sin embargo se requiere un balance muy preciso de NO^{\bullet} ya que un exceso puede inducir daño oxidativo y una reducción causa vasoconstricción y daño vascular (28).

Por su parte el $ONOO^{\bullet}$ puede generar nitración de los canales de potasio inhibirlo y reducir su respuesta de vasorelajación; también se ha relacionado el in-

cremento de los niveles de nitrotirosina con la apoptosis de miocitos, células endoteliales y fibroblastos en modelos experimentales de DM. Así mismo, el $ONOO^{\bullet}$ causa ruptura del DNA y activa a las polimerasas de reparación en diversas células, disminuyendo su viabilidad una inhibición de los efectos antiproliferativos del NO^{\bullet} . Adicionalmente, el $ONOO^{\bullet}$ oxida a la tetrahydrobiopterina, que es un cofactor de la eNOS, induciendo un desacoplamiento de la enzima, la cual produce O_2 en lugar del NO^{\bullet} (28, 29).

Las ERO también son capaces de oxidar las lipoproteínas plasmáticas, tanto a la apolipoproteína como los lípidos que la componen, provocando alteraciones en su función, su concentración plasmática, su síntesis y su degradación. La alteración de la lipoproteína de alta densidad (HDL) y la de muy baja densidad (VLDL) puede afectar el transporte reverso del colesterol y la aclaración de los triacilglicéridos plasmáticos, respectivamente. Las modificaciones oxidativas de la LDL le confieren un mayor poder aterogénico a la misma, todo lo cual contribuye e incrementa las dislipidemias características de la diabetes. Las LDL-oxidadas no son reconocidas por los receptores LDL y pueden hacer que los receptores de macrófagos las identifiquen y formen una precipitación en el endotelio generando placas ateroscleróticas (30).

Otro blanco frecuente del ataque de los agentes pro-oxidantes son los lípidos de las membranas de las células en general, alterando la fluidez y su estructura, afectando finalmente su función, ocasionando lipoperoxidación y ruptura de células e inflamación. En el caso del riñón esta lipoperoxidación compromete la integridad de la membrana basal y del epitelio, originando la pérdida de la función glomerular y tubular (31).

Todo los mecanismos anteriormente descritos resultan por la oxidación de lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, un estado patológico en la vasodilatación y una condición aterogénica; participando directa o indirectamente en los procesos ateroscleróticos, las nefropatías, las retinopatías, diversos daños micro y macrovasculares y alteraciones de la inervación central y periférica, propios de la DM y sus complicaciones (Fig. 3).

Estos eventos son la génesis molecular propuesta del desarrollo, progresión y consecuencias de las complicaciones cardiovasculares, estas complicaciones están caracterizadas por disfunción endotelial y aterosclerosis acelerada, las cuales se asocian frecuentemente con la morbi-mortalidad de la DM y en las mismas han sido asociados los mencionados mecanismos que se inician, se propagan o resultan en alteraciones de la producción de las ERO o fallas en la insuficiente protección antioxidante contra el estado oxidativo (Fig. 3).

En tal sentido se ha propuesto que la DM es un factor de riesgo para enfermedad cardiovascular, según lo descrito y de igual forma las complicaciones micro vasculares están claramente asociadas con nefropatía y retinopatía propias de la DM. Así mismo, las alteraciones macrovasculares resultan en enfermedades vasculares ateroscleróticas, tales como la enfermedad coronaria arterial, las enfermedades cerebrovasculares y las alteraciones vasculares periféricas, todas ellas claramente

asociadas con las causas de muerte en la evolución crónica de la enfermedad diabética (8).

Oxidases y antioxidantes en la *diabetes mellitus*

El estrés energético, osmótico y oxidativo en la DM puede inducir una respuesta generalizada tendiente a reparar o a matar a la célula por apoptosis, en esta condición tiene un papel central la NADPH oxidasa, esta enzima consiste de cinco subunidades y está asociada a la membrana es la mayor fuente de $O_2^{\cdot-}$ en condiciones de estrés (7).

Utilizando inhibidores de eNOS, NADPH oxidasa, xantina oxidasa y de la cadena transportadora de electrones de la mitocondria se ha demostrado que la producción de $O_2^{\cdot-}$ en pacientes con DM es predominantemente mediado por la enzima NADPH oxidasa. La actividad de NADPH oxidasa es significativamente mayor en tejido vascular obtenido de pacientes con DM y existen notables evidencias que la PKC activada por $O_2^{\cdot-}$ y por diversas citocinas en el paciente con DM es capaz de activar la NADPH oxidasa. Por lo cual no existen dudas de la participación de la NADPH oxidasa en el estrés oxidativo en pacientes con DM (32).

La incubación con angiotensina II (AngII) también ha demostrado que incrementa los niveles de ERO a través de la estimulación de NADPH oxidasa. La AngII ha sido implicada en la regulación arriba del receptor tipo lectina de las LDL-oxidadas (LOX-1) que es un receptor específico para LDL-oxidadas. La inhibición de la generación de AngII por inhibidores de la enzima convertidora de AngII (ACE1) y bloqueadores del receptor de AngII (ARB) ha demostrado que se puede atenuar estos procesos dañinos; sin embargo, se ha demostrado que el $O_2^{\cdot-}$ compite con tales efectos, es decir induce la generación de AngII (28).

Así mismo la DM tiene múltiples y complejos efectos sobre las concentraciones y la actividad de las enzimas antioxidantes; por ejemplo en el corazón donde la DM causa cardiomiopatía y falla cardíaca crónica, la expresión de la superóxido dismutasa (SOD) y de la glutatión peroxidasa (GPx) está disminuida, mientras que la catalasa (CAT) se incrementa en modelos de DM experimental. En pacientes con DM y falla cardíaca crónica, las tres enzimas disminuyen su expresión en el músculo cardíaco y el entrenamiento con un ejercicio adecuado puede incrementar la expresión y la actividad de estas enzimas antioxidantes (28).

También se ha observado que en pacientes con DM y falla renal crónica las concentraciones de isoprostano en plasma se correlacionan negativamente con el estatus antioxidante y la severidad


de la enfermedad. La modulación de las enzimas antioxidantes en el órgano blanco se ha propuesto que puede disminuir las complicaciones de las enfermedades cardíacas y renales, disminuyendo la posibilidad de tener insuficiencia renal crónica e insuficiencia cardíaca (33).

Todo lo anterior ha sugerido que la reducción del *status* antioxidante se relaciona con un proceso y evolución negativa de la diabetes y que la posibilidad de producirse complicaciones a etapas más tempranas es una constante. Sin embargo no se ha podido distinguir si estas complicaciones son las causantes de un estado de mayor estrés oxidativo y con ello de mayor oxidación y menor capacidad antioxidante o si la condición previa con oxidación y baja capacidad antioxidante es la responsable de las complicaciones subyacentes.

Múltiples esquemas de tratamiento se han ensayado en modelos experimentales y en pacientes con DM, los resultados son variables y a veces contradictorios (34, 35). El uso de antioxidantes convencionales se ha ido sustituyendo por oxidantes cada vez más de origen natural, sin concentraciones específicas y con estructuras y composiciones inespecíficas; como los obtenidos de plantas, alimentos, infusiones y aceites (36), en buena parte tratando de buscar extender su uso en tiempos muy prolongados y la aceptación y economía en el uso de los pacientes, en cadenas más largas de tiempo, empleándolos incluso antes de la presentación de las fases crónicas o las propias complicaciones de la enfermedad. Sin embargo, considerando el tipo de enfermedad crónico degenerativa, esto mismo ha generado un problema y un compromiso importante a su aplicación y evaluación en estudios epidemiológicos de gran alcance. Aún así los trabajos realizados son alentadores y una parte de ellos indican que es posible proponer que la evidente asociación de daño oxidativo asociado a la DM encuentra una contraparte terapéutica en el tratamiento antioxidante, aunque seguramente falta un buen tramo de camino para lograr conocer que parte del tratamiento, en qué momento indicarlo y por cuánto tiempo el tratamiento antioxidante

puede tener cabida en el terapéutica estándar de la DM y sus complicaciones.

Perspectivas

Existen evidencias que correlacionan la generación, la presencia y el daño oxidativo inducido por las ERO; además de poder entender cada vez de manera más precisa y bioquímicamente coherente de los mecanismos de formación y acumulación de las ERO y la producción de daño oxidativo y sus consecuencias. Así como, los resultados con tratamientos antioxidantes en diversos modelos han demostrado efectos benéficos sobre los problemas cardiovasculares y renales inducidos por la evolución de la DM. Sin embargo, se debe reconocer que el análisis global multivariado no ha sido capaz de mostrar los efectos benéficos de los antioxidantes convencionales en pacientes diabéticos, ya que los resultados del tratamiento son muy limitados tanto en efectos, como en tiempos de intervención con respecto a la enfermedad crónico degenerativa como lo es la DM y todas sus complicaciones crónicas que al igual que la enfermedad son multivariadas y de largo tiempo de evolución. Todo lo cual debilita la asociación causa-efecto de la DM como enfermedad oxidativa. A pesar de que se ha demostrado en pacientes que los agentes antioxidantes pueden contribuir a una eficacia terapéutica global y reducción de complicaciones, la misma requiere reforzar sus características de significancia estadística en poblaciones más grades, por mayores tiempos y con menores variables. El hecho es que al momento la "American Heart Association" indica que no hay suficiente evidencia experimental, mecanística y epidemiológica para justificar el uso de antioxidantes para reducir la enfermedad cardiovascular en la DM. Posteriores investigaciones tendrán que ser realizadas para entender la fisiopatología del daño oxidativo y el papel de la terapia antioxidante en la DM, lo que permitirá conocer su verdadera capacidad de reducir los mortales efectos crónicos de la DM. 

REFERENCIAS

1. ADA (American Diabetes Association) (2013) Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 36, Supplement 1, January. U.S.A. pp. 64-74.
2. IDF Diabetes Atlas, International Diabetes Federation (2012). <http://www.diabetesatlas.org>
3. ENSANUT. Resultados de la Encuesta Nacional de Salud 2012. Salud Pública México 2012.
4. Golbidi S, Ebadi SA, Laher I (2011) Antioxidants in the treatment of Diabetes. *Curr Diabetes Rev* 7(2): 106-125.
5. Forbes, JM, Cooper, ME (2013) Mechanisms of diabetic complications. *Physiol Rev* 93(1): 137-188.
6. Kaul K, Tarr J M, Ahmad SI, Kohner EM, Chibber R (2012) Introduction to diabetes mellitus. *Adv Exp Med Biol* 771:1-11.
7. Quintanar-Escorza, MA y Calderón-Salinas, JV (2009) La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. *REB* 28(3):89-101.
8. Kaneto H, Katakami N, Matsuhisa M, Matsuoka TA (2010) Role of Reactive Oxygen Species in the Progression of Type 2 Diabetes and Atherosclerosis. *Mediators Inflamm* 2010: Article ID 453892, 1 pages, doi:10.1155/2010/453892.
9. Likidilid A, Patchanans N, Peerapatdit T, Sriratanasathavorn C. (2010) Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in erythrocytes of type 2 diabetic patients. *J Med Assoc Thai* 93(6):682-693.
10. Takayanagi R, Inoguchi T, Ohnaka K (2011) Clinical and experimental evidence for oxidative stress as an exacerbating factor of diabetes mellitus. *J Clin Biochem Nutr* 48 (1): 72-77.
11. Srivatsan R, Das S, Gadde R, Manoj-Kumar K, Taduri S, Rao N, Ramesh B, Bajarani A, Shah Kaajal, Kamireddy S C, Priyatham G, Kamatha A, Rao A (2009) Antioxidants and lipid peroxidation status in diabetic patients with and without complications. *Arch Iran Med* 12:(2) 121-127.
12. Lam CS, Benzie IF, Choi SW, Chan LY, Yeung VT, Woo GC (2011) Relationships among diabetic retinopathy, antioxidants, and glycemic control. *Optom Vis Sci* 88(2): 251-256.
13. Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S, Yokota, T (2011) Oxidative stress in cardiac and skeletal muscle dysfunction associated with diabetes mellitus. *J Clin Biochem Nutr* 48(1): 68-71.
14. Singh DK, Winocour P, Farrington K (2011) Oxidative stress in early diabetic nephropathy: fueling the fire. *Nat Rev Endocrinol* 7(3): 176-184.
15. Calderón-Salinas JV, Muñoz-Reyes EG, Guerrero-Romero M, Rodríguez-Moran M, Bracho-Riquelme RL, Carrera-Gracia MA, Quintanar-Escorza, MA. (2011) Eryptosis and oxidative damage in type 2 diabetic mellitus patients with chronic kidney disease. *J Mol Cell Biochem* 357(1-2):171-179.
16. Green K, Brand MD, Murphy MP (2004) Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. *Diabetes* 53 1:S110-8.
17. Naudi A, Jove M, Ayala V, Cassanye A, Serrano J, Gonzalo H, Boada J, Prat J, Portero-Otin M, Pamplona R (2012) Cellular dysfunction in diabetes as maladaptive response to mitochondrial oxidative stress. *Exp Diabetes Res* 2012:696215.
18. Yamagishi S (2011) Role of advanced glycation end products (AGEs) and receptor for AGEs (RAGE) in vascular damage in diabetes. *Exp Gerontol* 46(4): 217-224.
19. Thornalley PJ, Langborg A, Minhas HS (1999) Formation of glyoxal, methylglyoxal and 3-deoxyglucosone in the glycation of proteins by glucose. *Biochem J*. 344 Pt 1:109-116.
20. Das Evcimen N, King GL. (2007) The role of protein kinase C activation and the vascular complications of diabetes. *Pharmacol Res* 55(6): 498-510.
21. Hashim Z, Zarina S (2012) Osmotic stress induced oxidative damage: possible mechanism of cataract formation in diabetes. *J Diabetes Complication* 26(4): 275-279.
22. Goh SY, Cooper ME (2008) Clinical review: The role of advanced glycation end products in progression and complications of diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 93(4):1143-1152.
23. Whiting PH, Kalansooriya A, Holbrook I, Haddad F, Jennings PE (2008) The relationship between chronic glycemic control and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *Br J Biomed Sci* 65(2):71-74.
24. Chevion M, Berenshtein E, Stadtman ER (2002) Human studies related to protein oxidation: Protein carbonyl content as a marker of damage. *Free Radical Research*. 33 Suppl:S99-108.

25. Beisswenger PJ, Drummond KS, Nelson RG, Howell SK, Szwegold BS, Mauer M (2005) Susceptibility to diabetic nephropathy is related to dicarbonyl and oxidative stress. *Diabetes* 54(11):3274-5281
26. Miyata T (2002) Alterations of non-enzymatic biochemistry in uremia, diabetes and atherosclerosis ("Carbonyl stress") *Bulletin et memoires d l'Académie Royale de Medecine de Belgique*; 157(3-4): 189-196.
27. Pessler D, Rudich A, Bashan N (2001) Oxidative stress impairs nuclear proteins binding to the insulin responsive element in the GLUT 4 promoter. *Diabetologia* 44(12): 2156-2164.
28. Johansen JS, Harris AK, Rychly DJ, Ergul A (2005) Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. *Cardiovasc Diabetol* 29;4(1):5.
29. Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB (2003) Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem Mol Toxicol* 17(1):24-38.
30. Aronson, D, Rayfiel, EJ. (2002) How hyperglycemia promotes atherosclerosis: Molecular mechanisms. *Cardiovascular Diabetology* 1:1.
31. Giacco F, Brownlee M (2010) Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res* 107(9):1058-1070.
32. Guzik TJ, Mussa S, Gastaldi D, Sadowski J, Ratnatunga C, Pillai R, Channon KM (2002) Mechanisms of increased vascular superoxide production in human diabetes mellitus: role of NAD(P)H oxidase and endothelial nitric oxide synthase. *Circulation* 105(14): 1656-1662.
33. Polidori MC, Praticó D, Savino K, Rokach J, Stahl W, Mecocci P (2004) Increased F2 isoprostane plasma levels in patients with congestive heart failure are correlated with antioxidant status and disease severity. *J Card Fail* 10(4):334-338.
34. Sheikh-Ali M, Chehade JM, Mooradian AD (2011) The antioxidant paradox in diabetes mellitus. *Am J Ther* 18(3):266-278.
35. Singh PP, Mahadi F, Roy A, Sharma P (2009) Reactive oxygen species, reactive nitrogen species and antioxidants in etiopathogenesis of diabetes mellitus type-2. *Indian J Clin Biochem* 24(4):324-342.
36. Tabatabaei-Malazy O, Larijani B, Abdollahi M (2012) A systematic review of in vitro studies conducted on effect of herbal products on secretion of insulin from Langerhans islets. *J Pharm Pharm Sci* 15(3):447-466.