



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE
HIDALGO**

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

**ACTIVIDAD DE LA SINTASA DE ÓXIDO NÍTRICO Y
ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES
HIPERGLUCÉMICOS CON ALTERACIÓN METABÓLICO
– NUTRICIONAL EN MORELIA MICHOACÁN.**

TESIS

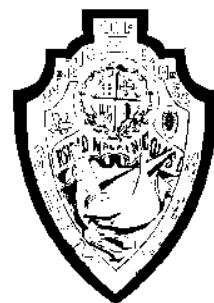
**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

**PRESENTADO POR
Valery Yuritzi García Ibarra**

**DIRECTOR DE TESIS
Maestro en ciencias Juan Carlos Cortés García**

**CO-DIRECTOR DE TESIS
Química farmacobióloga Alma Julia Tafolla Delgado**

MORELIA MICH., FEBRERO DEL 2015



ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	4
DEDICATORIAS	5
LISTA DE FIGURAS	6
LISTA DE TABLAS	7
LISTA DE ABREVIATURAS	8
RESUMEN	10
ABSTRACT	11
I. INTRODUCCIÓN	12
1.1 DIABETES MELLITUS	12
1.2 Síntomas	12
1.3 Diagnóstico	12
1.4 Clasificación	13
1.5 OBESIDAD Y SOBREPESO	14
1.5.1 Obesidad y Diabetes mellitus	15
1.6 RESISTENCIA A LA INSULINA	16
1.7 DISFUNCIÓN ENDOTELIAL	18
1.7.1 Disfunción endotelial y Diabetes mellitus	19
1.8 SINTASA DE ÓXIDO NÍTRICO (NOS)	19
1.8.1 Biosíntesis de NO	20
1.8.2 Reducción de la producción de NO	23
1.8.3 Alteración de la función de la eNOS	23
1.9 GLICOSILACIÓN AVANZADA	23
1.9.1 Etapas de glicosilación	24
1.10 ESTRÉS OXIDATIVO	27
1.10.1 Síntesis de radicales libres	28
1.10.4 Memoria metabólica y estrés oxidativo	30
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	33
III. JUSTIFICACIÓN	33
IV. HIPÓTESIS	34
V. OBJETIVO	34
5.1 Objetivo general	34
5.2 Objetivos específicos	34
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	35
6.1 Detección de pacientes que cumplan con criterios de inclusión	35
6.2 Criterios de inclusión	35
6.3 Criterios de exclusión	35
6.4 Criterios de eliminación	36
6.5 Recolección de las muestras	36
6.6 Determinación de glucosa	36
6.7 Determinación de concentración de nitrito/nitrato	37
6.8 Determinación de malondialdehído	37
6.9 Determinación de sobrepeso-obesidad	38

6.10 Recolección de información general del paciente	38
6.11 Procesamiento y presentación de información	38
6.12 Aspectos éticos	38
VII. RESULTADOS	40
7.1 Datos generales de la población	43
7.2 Evaluación de la función endotelial	48
7.3 Correlación glucosa-nitritos/nitratos en pacientes con sobrepeso	54
7.4 Correlación glucosa-TBARS en pacientes con sobrepeso	55
7.5 Correlación glucosa-nitritos/nitratos en pacientes con obesidad	56
7.6 Correlación glucosa-TBARS en pacientes con obesidad	57
VIII. DISCUSIÓN	58
IX. CONCLUSIONES	60
X. RECOMENDACIONES	61
XI. REFERENCIAS	62
XII. ANEXOS	65

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Toxicología de la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez” y en el Laboratorio de Análisis Clínicos de Hospital General “Dr. Miguel Silva” SSA, bajo la dirección del M.C. Juan Carlos Cortés García.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, que con su extraña forma de trabajar y a veces incomprensible, hace que todo sea posible, que no importa las veces que me caiga, siempre me ayuda a levantarme, y nunca me deja sola.

A mi mamá, ya que con gran esfuerzo, paciencia, dedicación, apoyo incondicional, consejos, motivación, pero sobre todo por su amor, cumplí el sueño de terminar mi carrera universitaria. Si no hubiera sido por ello no lo habría logrado, este logro no es solo mío, es de las 2. Te amo, estoy muy orgullosa y soy muy afortunada de tener la madre que tengo.

A mi hermana Dulce que siempre ha estado conmigo, apoyándome, escuchándome, regañándome, cuidándome, queriéndome, y a pesar de nuestras diferencias, siempre estamos juntas, mi vida no sería la misma sin ella.

A Marina por siempre estar conmigo apoyándome, aconsejándome, por nunca dejarme sola a pesar de todo, por haberse convertido en algo más que mi amiga, y ser una segunda hermana para mí.

A mis tías Bella y Marlene por alentarme, demostrarme su cariño y alegrarse por cada uno de mis logros.

A Carlos por apoyarme en esos tiempos difíciles, por estar conmigo, por alentarme y darme entusiasmo.

A Fermín y Efraín por enseñarme a que casi ningún problema en esta vida, es lo suficientemente grave como para quitarte una sonrisa, y que vale la pena seguir adelante.

Al MC Juan Carlos Cortes García por su apoyo y darme la oportunidad de realizar una tesis, y sobre todo por brindarme una herramienta más para defenderme como profesionalista.

A mis revisores Adelina, Rodrigo, Daniel, Leticia y Fernando por el apoyo, la confianza, el tiempo que se dieron para revisar mi proyecto de investigación y haberlo aprobado.

A mi co-directora de tesis la QFB Alma Julia Tafolla Delgado y a las químicas del hospital por su apoyo incondicional en la elaboración de este proyecto.

A mis amigos y compañeros por el apoyo a lo largo de este tiempo y por haber hecho más ameno este proceso.

Al Laboratorio de Toxicología de estudios de posgrado de la facultad de Medicina “Dr. Ignacio Chávez, y al Hospital General Dr. Miguel Silva por permitirme hacer uso de sus instalaciones y poder realizar este trabajo de investigación.

A mis profesores que contribuyeron en mi formación profesional y personal, a través de sus conocimientos y experiencias, con las que enriquecieron mi vida.

DEDICATORIAS

A Dios, por darme la oportunidad de vivir, por haberme dado salud, por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía, además de su infinita bondad y amor.

A mis abuelos Magdalena (QEPD), Toño, Elisa y Benjamín (QEPD) por sus pláticas, consejos, comprensión y apoyo, pero sobre todo por darme a mis padres, que son de lo más valioso que tengo en la vida.

A mi mamá Teresa Ibarra por darme la vida, por creer en mí, por ser un gran ejemplo, demostrándome, que no importa que tan difícil sea la vida o las posibilidades que uno tenga, mientras haya amor, fe, valores, esfuerzo y dedicación, todo se puede lograr, y por darme a alguien tan valiosa como lo es mi hermana y algo tan importante como es la educación.

A mi hermana Dulce por estar conmigo y apoyarme siempre, esperando ser un buen ejemplo, recordándote que siempre estaré para ti, Te amo.

A mis amigos Marina, Carlos, Chasito, Dany, Rodrigo, Daniel, Rosy, Nancy, Moy, Viry, Karla, Fermín, Efraín, Ivan, y a todos aquellos que no recordé a la hora de escribir, por todos esos maravillosos e inolvidables momentos compartidos, por estar conmigo en las buenas y en las malas.

A mi papá Rolando García por haberme dado la vida y por su extraña, única y divertida forma de demostrarme su cariño, te quiero mucho papá.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Modelo propuesto de la estructura y funcionamiento de la eNOS . .	22
Figura 2. Síntesis de la eNOS	23
Figura 3. Esquema de reacción del proceso de glicación no enzimática de proteínas	26
Figura 4. Mecanismos de estrés oxidativo y productos avanzados de glicosilación que se presentan en la memoria metabólica	29
Figura 5. Vías que intervienen en la patogenia de las complicaciones diabéticas	32
Figura 6. Distribución por genero de los pacientes	43
Figura 7. Distribución por edades de todos los pacientes	44
Figura 8. Distribución por edades de los pacientes con sobrepeso y obesidad	45
Figura 9. Cuantificación de los niveles de glucosa	46
Figura 10. Cuantificación de los niveles de glucosa categorizados en rangos de glucosa	47
Figura 11. Cuantificación de los niveles de nitritos/nitratos	48
Figura 12. Cuantificación de los niveles de nitritos/nitratos en pacientes con sobrepeso categorizados en diferentes rangos de glucosa	49
Figura 13. Cuantificación de los niveles de nitritos/nitratos en pacientes con obesidad categorizados en diferentes rangos de glucosa	50
Figura 14. Cuantificación de los niveles de TBARS	51
Figura 15. Cuantificación de los niveles de TBARS en los pacientes con sobrepeso categorizados en diferentes rangos de glucosa	52
Figura 16. Cuantificación de los niveles de TBARS en los pacientes con obesidad categorizados en diferentes rangos de glucosa	53
Figura 17. Correlación entre la concentración de nitritos/nitratos y concentración de glucosa en pacientes con sobrepeso y el grupo control	54
Figura 18. Correlación entre la concentración de TBARS y la concentración de glucosa en pacientes con sobrepeso y el grupo control	55
Figura 19. Correlación entre la concentración de nitritos/nitratos y concentración de glucosa en pacientes con obesidad y el grupo control	56
Figura 20. Correlación entre la concentración de TBARS y la concentración de glucosa en pacientes con obesidad y el grupo control	57

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Criterios para el diagnóstico de la diabetes mellitus según la ADA .	13
Tabla 2. Distribución de frecuencia de pacientes de acuerdo con el diagnóstico y la glucosa sanguínea	40
Tabla 3. Distribución de pacientes de acuerdo a hábitos higiénicos – dietéticos y su glucosa sanguínea	41
Tabla 4. Distribución de pacientes de acuerdo a antecedentes familiares y su glucosa sanguínea	41
Tabla 5. Distribución de pacientes de acuerdo a algunos medicamentos consumidos y su glucosa sanguínea	42

LISTA DE ABREVIATURAS

ADA	American Diabetes Association
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AG	Ácidos grasos
AGEs	Productos finales de glicosilación avanzada
ANOVA	Análisis de varianza de una variable
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
BH ₄	Tetrahidrobiopterina
CaM	Calmodulina
Colesterol LDL	Lipoproteína de baja densidad
COOH terminal	Carboxilo terminal
DE	Disfunción endotelial
DM	Diabetes mellitus
DM 2	Diabetes mellitus tipo 2
eNOS	Sintasa de óxido nítrico endotelial
ENSA	Encuesta nacional de salud
ENSANUT	Encuesta nacional de salud y nutrición
EO	Estrés oxidativo
ERN	Especies reactivas de nitrógeno
ERO	Especies reactivas de oxígeno
FAD	Flavin adenin dinucleótido
Fe	Hierro
FMN	Flavin mononucleótido
g	Gramo
GNE	Glicosilación no enzimática
GSH	Glutación
HTA	Hipertensión arterial
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrógeno
ICAM-1	Molécula de adhesión intracelular-1
IGF-1	Factor de crecimiento insulínico tipo 1
IL6	Interleucina 6
IMC	Índice de masa corporal
iNOS	Sintasa de óxido nítrico inducible
IRS-1	Sustrato del receptor de insulina
KDa	Kilo daltones
Kg/m ²	Kilogramos por metro cuadrado
MDA	Malondialdehído
MGO	Metilglioxal
mg/dL	Miligramos por decilitro
mmHg	Milímetros de mercurio
mmol/L	Milimoles por litro
mtNOS	Sintasa de óxido nítrico mitocondrial
m ²	Metro cuadrado
N	Nitrógeno

NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido
NF- κ B	Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas
NH ² terminal	Amino terminal
nNOS	Sintasa de óxido nítrico neuronal
NO	Óxido nítrico
NOS	Sintasa de óxido nítrico
O	Oxígeno
O ₂	Oxígeno molecular
O ²⁻	Anión superóxido
OH-	Anión hidroxilo
OMS	Organización Mundial de la Salud
ONOO-	Anión peroxinitrito
PAI-1	Inhibidor del activador de plasminógeno-1
PI3K	Fosfatidilinositol 3-cinasa
PKC	Proteína cinasa C
RAGE	Receptor de productos finales de glicosilación avanzada
RL	Radicales libres
S	Ázufre
s	Segundos
TBARS	Especies reactivas al ácido tiobarbitúrico
TFN- α	Factor de necrosis tumoral α
UCP3	Proteína desacopladora tipo 3
VCAM	Proteína de adhesión de células vasculares 1

RESUMEN

ACTIVIDAD DE LA SINTASA DE OXIDO NITRICO Y ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES HIPERGLICEMICOS CON ALTERACIÓN METABOLICO- NUTRICIONAL EN MORELIA MICHOACAN

Valery Yuritzi García Ibarra, QFB Alma Julia Tafolla Delgado, M.C. Juan Carlos Cortes García.

Palabras clave: Diabetes mellitus, obesidad, sobrepeso, disfunción endotelial, sintasa de óxido nítrico, AGE, memoria metabólica.

Introducción: El sobrepeso y la obesidad son el quinto factor principal de riesgo de mortalidad en el mundo. Cada año fallecen por lo menos 2,8 millones de personas adultas a causa de ello. El 44% de la carga de diabetes se atribuye al sobrepeso y la obesidad, que puede asociarse a disfunción endotelial. También el estado de insulinoresistencia se relaciona a la formación de productos de glicosilación avanzada (AGE).

Objetivos: Analizar la función endotelial en personas que acuden a la consulta externa del Hospital General “Dr. Miguel Silva” y presenten la morbilidad asociada hiperglicemia - sobrepeso y/o obesidad.

Materiales y métodos: Se recolectaron muestras (n=194) de los pacientes que acuden al Laboratorio del Hospital General “Dr. Miguel Silva” y presentaron valores de glucosa, colesterol y triglicéridos elevados, se conservó un alícuota de su muestra sanguínea. En Archivo Clínico se revisó su expediente clínico para corroborar que cumplieran con los criterios de inclusión, para posteriormente determinar NITRITOS/NITRATOS mediante el método de Griess y TBARS mediante la determinación de malondialdehído.

Resultados: Se distribuyeron en grupos; control, sobrepeso y obesidad. Donde el grupo de sobrepeso tuvo mayor concentración de glucosa. La concentración de nitritos/nitratos fue menor en los grupos sobrepeso y obesidad comparados con el control ($p \leq 0.05$); la concentración de TBARS presentó una tendencia a aumentar en los grupos sobrepeso y obesidad, y se elevó en la comorbilidad sobrepeso – hiperglicemia ($p \leq 0.05$).

Conclusiones: La disfunción endotelial exacerbada se presentó en pacientes con las comorbilidades hiperglicemia – sobrepeso y/o obesidad, del Hospital General “Dr. Miguel Silva”

ABSTRACT

ACTIVITY OF NITRIC OXIDE SYNTHASE AND OXIDATIVE STRESS IN PATIENTS WITH BOTH HYPERGLYCEMIC AND NUTRITIONAL-METABOLIC DISTURBANCE IN MORELIA MICHOACAN.

Valery Yuritzi García Ibarra, QFB Alma Julia Tafolla Delgado, MC Juan Carlos Cortes García.

Keywords: Diabetes mellitus, obesity, overweight, endothelial dysfunction, nitric oxide synthase, AGE, metabolic memory.

Introduction: Overweight and obesity are the fifth leading risk factor for mortality in the world. Each year worldwide at least 2.8 million adults die from it. 44% of diabetes cases are attributed to overweight and obesity, which may be associated with endothelial dysfunction. The insulin resistance state has also been related to the formation of advanced glycation end products (AGE).

Objectives: To analyze endothelial function in patients who have morbidity, hyperglycemia - overweight and / or obesity in the outpatient service at the clinical analysis laboratory of the General Hospital "Dr. Miguel Silva".

Materials and Methods: Annormally high level glucose, cholesterol and triglycerides Blood Samples FROM patients (n = 194) who come to the Clinical analysis Laboratory of General Hospital "Dr. Miguel Silva" were collected. An aliquot of the blood sample was retained for testing nitrite / nitrate by the Griess method and FOR measuring malondialdehyde by the assay of tbars. each patient's clinical record was reviewed to assure that inclusion criteria were met.

Results: The individuals were divided into groups; a) control b) normoglycemic patients associated with overweight and obesity, and c) hyperglycemic patients associated with overweight and obesity. the overweight group had a higher concentration of glucose. The concentration of nitrite / nitrate was lower in overweight and obese groups compared to the control ($p \leq 0.05$); TBARS concentration showed An increasing tendency in the overweight and obese groups, and MALONDIALDEHYDE LEVELS WERE significantly elevated in the overweight and - hyperglycemia comorbid group ($p 0.05$).

Conclusions: An exacerbated endothelial dysfunction was observed in the hyperglycemia - overweight and / or obesity comorbid group.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 DIABETES MELLITUS

La diabetes es un reto de salud global; estimaciones de la OMS indican que en 1995 había en el mundo 30 millones de personas con diabetes, en el 2012 se estima que 347 millones de personas viven con diabetes.¹ Los datos de la ENSANUT 2012 identifican a 6.4 millones de adultos mexicanos con diabetes, es decir, 9.2% de los adultos en México¹.

De acuerdo con la *American Diabetes Association* (ADA), la diabetes es un grupo de trastornos metabólicos caracterizados por la hiperglucemia resultante de los defectos de la secreción o la acción de la insulina, o ambas. Existen muchos procesos fisiopatogénicos involucrados en su aparición, que varían desde la destrucción autoinmunitaria de las células beta del páncreas hasta alteraciones que conducen a la resistencia a la acción de la insulina. La base de todas las alteraciones metabólicas es la acción deficiente de la insulina sobre los tejidos blanco².

La diabetes mellitus es un conjunto de alteraciones metabólicas de etiología múltiple, que afecta diferentes órganos y tejidos, se caracteriza por hiperglicemia crónica resultante de la baja producción de insulina, en la acción de la insulina, ambas o por su uso inadecuado por parte del cuerpo³, que con el tiempo daña gravemente muchos órganos y sistemas, especialmente los nervios y los vasos sanguíneos⁴.

1.2 Síntomas

Los síntomas principales de la DM son poliuria, polifagia, polidipsia, pérdida de peso sin razón aparente, fatiga o cansancio y cambios en la agudeza visual. Entre los síntomas menos frecuentes, cortes/hematomas que tardan en sanar, hormigueo o entumecimiento en las manos o los pies e infecciones recurrentes de la piel, encías o vejiga⁵.

1.3 Diagnóstico

El diagnóstico preciso establecido por la OMS se basa en: ⁴

- Síntomas clásicos de la enfermedad (poliuria, polidipsia, polifagia y pérdida de peso) y una toma sanguínea casual o al azar con cifras mayores o iguales de 200 mg/dL (11,1 mmol/L)⁴.

- Medición de glucosa en plasma en ayunas mayor o igual a 126 mg/dL (7,0 mmol/L)⁶.
- Prueba de tolerancia a la glucosa oral (curva de tolerancia a la glucosa)⁶.

Criterios para el diagnóstico según la ADA: ^{2,3}

Criterios ADA
1. Síntomas clásicos y glucemia al azar en plasma venoso ≥ 200 mg/dl.
2. Glucemia basal en plasma venoso ≥ 126 mg/dl.
3. Glucemia en plasma venoso ≥ 200 mg/dl a las 2 horas de sobrecarga oral con 75 g de glucosa ¹ .

Tabla 1. Criterios para el diagnóstico de Diabetes mellitus según la ADA.³

1.4 Clasificación

La OMS la clasifica en: DM tipo 1, DM tipo 2 y DM gestacional.

- DM tipo 1: en este tipo de diabetes el páncreas no produce insulina o produce muy poco. El propio sistema inmune ataca y destruye las células productoras de insulina. También es llamada diabetes insulino-dependiente o diabetes juvenil⁴.
- DM tipo 2: en este padecimiento el páncreas produce insulina pero por alguna razón, el organismo no es capaz de usarla adecuadamente. También conocida como la diabetes del adulto⁴.

La probabilidad de presentar diabetes tipo 2 se duplica con cada 20% de sobrepeso, debido a que el exceso de grasa en el organismo disminuye la función efectiva de la insulina⁴.

- DM gestacional: es la diabetes que aparece en mujeres durante el embarazo y generalmente desaparece después del parto. Los cambios hormonales durante el embarazo hacen que en algunos casos el páncreas no sea capaz de producir suficiente insulina⁴.

La Asociación Americana de Diabetes (ADA) clasifica la diabetes mellitus en cuatro grupos: DM tipo 1, DM tipo 2, DM gestacional y otros tipos de diabetes. ⁽²⁾

En una versión actualizada de la patogenia de la DM2 De Fronzo ha identificado hasta ocho mecanismos a los que denomina “el octeto del mal agujero” (8). Todos ellos condicionan hiperglicemia:⁶

1. Disminución del efecto de incretinas.
2. Incremento de la lipólisis.
3. Incremento en la reabsorción tubular de glucosa en el riñón.
4. Disminución de la captación de glucosa por el músculo.
5. Disfunción en los neurotransmisores cerebrales.
6. Incremento de la gluconeogénesis por el hígado.
7. Incremento en la secreción de glucagón por las células alfa del páncreas.
8. Disminución paulatina en la secreción de insulina por el páncreas⁶.

1.5 OBESIDAD Y SOBREPESO

La obesidad es el principal factor de riesgo modificable para el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles, como la diabetes mellitus y las enfermedades cardiovasculares (las dos principales causas de mortalidad en México), entre otras complicaciones⁷. El sobrepeso y la obesidad afectan a 7 de cada 10 adultos mexicanos⁷.

En la ENSANUT 2012 se evaluó a 38 208 personas adultas que representan a más de 69 millones de mexicanos. Para las comparaciones se utilizaron además datos de la ENSA 2000 y la ENSANUT 2006. De acuerdo con los puntos de corte de índice de masa corporal (IMC) (kg/m^2) propuestos por la OMS, la prevalencia de sobrepeso y obesidad en México en adultos fue de 71.28% (que representan a 48.6 millones de personas). La prevalencia de obesidad ($\text{IMC} \geq 30 \text{ kg}/\text{m}^2$) en este grupo fue de 32.4% y la de sobrepeso de 38.8%. La obesidad fue más alta en el sexo femenino (37.5%) que en el masculino (26.8%), al contrario del sobrepeso, donde el sexo masculino tuvo una prevalencia de 42.5% y el femenino de 35.9%⁸.

El sobrepeso y la obesidad resultan de una combinación diaria de factores genéticos y de comportamiento, como mala alimentación y sedentarismo⁹, siendo definidos como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud. El índice de masa corporal (IMC) es un indicador simple de la relación entre el peso y la talla que se utiliza frecuentemente para identificar el sobrepeso y la obesidad en los adultos (kg/m^2). Según la OMS un IMC igual o superior a 25 determina sobrepeso, y un IMC igual o superior a 30 obesidad⁸.

- Desde 1980, la obesidad se ha duplicado en todo el mundo.
- En 2008, 1400 millones de adultos (de 20 y más años) tenían sobrepeso. Dentro de este grupo, más de 200 millones de hombres y cerca de 300 millones de mujeres eran obesos.

- El 65% de la población mundial vive en países donde el sobrepeso y la obesidad cobran más vidas de personas, que la insuficiencia ponderal⁸.

El sobrepeso y la obesidad son el quinto factor principal de riesgo de defunción en el mundo. Cada año fallecen por lo menos 2,8 millones de personas adultas como consecuencia del sobrepeso o la obesidad. Además, el 44% de la carga de diabetes, el 23% de la carga de cardiopatías isquémicas y entre el 7% y el 41% de la carga de algunos cánceres son atribuibles al sobrepeso y la obesidad⁸.

La causa fundamental del sobrepeso y la obesidad es un desequilibrio energético entre calorías consumidas y gastadas. En el mundo, se ha producido: ⁸

- un aumento en la ingesta de alimentos hipercalóricos que son ricos en grasa, sal y azúcares pero pobres en vitaminas, minerales y otros micronutrientes, y
- un descenso en la actividad física como resultado de la naturaleza cada vez más sedentaria de muchas formas de trabajo, de los nuevos modos de desplazamiento y de una creciente urbanización⁸.

El sobrepeso y la obesidad son factores de riesgo para : insulinoresistencia, glucemia basal anómala, intolerancia hidrocarbonada, diabetes mellitus, hipertensión arterial, dislipemia, síndrome de apnea obstructiva del sueño, artritis, colelitiasis, hiperuricemia, algún tipo de cáncer y aumento de marcadores de función endotelial, como el fibrinógeno, el factor Von Willebrand y la proteína C reactiva. Además, están asociados con enfermedad arterial coronaria, insuficiencia cardíaca, arritmia, accidente cerebrovascular e irregularidad menstrual¹⁰.

Los términos «Manzana» y «pera» se han venido utilizando para señalar la diferente distribución de la grasa corporal observada en hombres y mujeres, respectivamente. Una acumulación preferente en la zona de la cintura se asocia con un mayor riesgo de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y enfermedad cardiovascular, y es la distribución más frecuente en el hombre. Sin embargo, la presencia predominante de grasa en cadera y muslo, más habitual en las mujeres, se ha relacionado con cierta protección frente a diabetes y enfermedad cardiovascular. La distribución de la grasa corporal está condicionada genéticamente¹¹.

1.5.1 Obesidad y diabetes mellitus

Se han propuesto tres mecanismos que relacionan la obesidad con resistencia a la insulina y el desarrollo de diabetes: ¹¹

- Aumento de producción de adipocinas y citocinas.
- Depósitos de grasa ectópica, especialmente en el hígado.
- Disfunción mitocondrial, evidente por el descenso de la cantidad/función mitocondrial, lo que puede contribuir, por un lado, a disminuir la sensibilidad a la insulina y, por otro, a afectar a la función de la célula beta¹¹.

El tejido adiposo blanco puede ser la clave en el proceso de insulinoresistencia, ya que en el desarrollo de la DM2 se producen dos alteraciones esenciales: la disminución en la captación de glucosa y ácidos grasos (AG) en el músculo, y la pérdida de la supresión para la liberación de AG y glicerol desde los adipocitos. La lipogénesis y la oxidación de los AG son procesos con una alta integración y se considera que hay señales que permiten que, ante un aumento de las grasas, también se eleve fisiológicamente la actividad de la máquina oxidativa¹².

Una vez que se desarrolla la hiperglucemia, el exceso de glucosa podría inhibir la oxidación celular de grasas y favorecer la acumulación de lípidos ectópicos que deprimen el transporte de glucosa y así exacerban la resistencia a la insulina¹².

La elevación de AG dentro de la célula muscular, tiene un efecto depresor sobre el sustrato del receptor de insulina 1 (IRS-1) asociado a la actividad de fosfoinositol 3 kinasa (PI3K)¹².

1.6 RESISTENCIA A LA INSULINA

La insulina es una hormona peptídica de 5.8 KDa, secretada por las células β en los islotes de Langerhans del páncreas en respuesta a niveles elevados de nutrientes en la sangre. Su función principal es mantener la concentración de glucosa en sangre dentro de un rango normal 70-110 mg/dL. También regula el metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas, y promueve la división y el crecimiento de las células a través de efectos mitogénicos¹³.

La resistencia a la insulina es el componente central del llamado síndrome metabólico descrito por Reaven en 1988, los componentes de este síndrome giran alrededor de este fenómeno, en la actualidad los criterios de diagnóstico incluyen la presencia de por lo menos tres de los siguientes criterios: ⁶

1. Obesidad: definida como perímetro abdominal igual o mayor de 102 cm en varones y 88 cm en mujeres.
2. Dislipidemia: caracterizada por una cifra igual o mayor de 150 mg/dL de triglicéridos.

3. Niveles de colesterol HDL menores de 40 mg/dL en varones o de 50 mg/dL en mujeres.
4. Presión arterial sistólica mayor o igual de 130 mm Hg y diastólica mayor o igual de 85 mm Hg.
5. Niveles de glucosa en sangre mayores a 110 mg/dL⁶.

Existen otros factores de riesgo asociados con el síndrome metabólico y que parecen depender de la resistencia a la insulina y a la consiguiente hiperinsulinemia, como: el incremento en la proteína C reactiva, alteraciones del fibrinógeno, exceso en la circulación de citoquinas como la interleucina 6 (IL 6), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF), moléculas de adhesión intracelular y de células vasculares (ICAM – 1 y VCAM), el factor VIII y de factores protrombóticos tales como el inhibidor del activador de plasminógeno (PAI 1), el dímero D y el fibrinopéptido A, además de la presencia de estrés oxidativo, como es el caso del colesterol LDL oxidado y otros lípidos peroxidados⁶.

Un mecanismo importante para la resistencia a la insulina, es el fenómeno de disfunción mitocondrial; fundamentada en el exceso de ácidos grasos en la circulación, y asociado a la reducción en el número de mitocondrias, produce un incremento en el nivel de ácidos grasos intracelulares y también del diacilglicerol. Estas moléculas activan la proteína cinasa C (PKC) que a su vez activa la cascada de la serina cinasa, llevando al incremento en la fosforilación de los residuos de serina en el IRS1. EL incremento en la fosforilación de serina del receptor IRS impide la fosforilación de residuos de tirosina en IRS1; lo cual a su vez inhibe la actividad de la fosfoinositol cinasa, determinando en última instancia la supresión del transporte de glucosa inducida por insulina⁶.

Existen varios defectos en los mecanismos de retroalimentación para mantener la capacidad oxidativa mitocondrial en DM2: la elevación de los ácidos grasos libres lleva a la acumulación mitocondrial de ácidos grasos; que contribuye a la disminución en la función de la proteína desacopladora tipo 3 (UCP3) que condiciona disminución en la eliminación de aniones de ácidos grasos, la disminución de la actividad de UCP3 incrementa la producción de formas reactivas de oxígeno que aumentan la peroxidación lipídica, lo cual redunda en incremento del daño mitocondrial, que conlleva una disminución en la capacidad oxidativa celular⁶.

1.7 DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

El endotelio vascular es considerado como el órgano más extenso del organismo humano, con un peso aproximado de 1 800 g y una superficie de alrededor de 1 500 m², el cual cumple disímiles e importantes funciones, como: creación de una superficie no trombogénica, permitir a la sangre circular libremente por el interior de los vasos sanguíneos, mantenimiento del tono vascular mediante la liberación de sustancias vasodilatadoras y vasoconstrictoras, regular la angiogénesis, regulación del equilibrio entre coagulación y fibrinólisis, control de la permeabilidad a sustancias y células durante la respuesta inflamatoria¹⁴.

La disfunción endotelial la provocan múltiples factores, como: las infecciones, la dislipidemia, el desequilibrio del estado de óxido-reducción local, las turbulencias sanguíneas, etc. Si bien es posible que el endotelio reaccione rápidamente a estas agresiones, lo común es que la expresión de diferentes proteínas génicas para la adaptación se realice a largo plazo: esto provoca problemas en la síntesis de diferentes productos endoteliales que altera el equilibrio en la vaso-regulación y provoca una serie de alteraciones que culminan en problemas de la perfusión locales y sistémicos¹⁵.

La disfunción endotelial (DE) es una serie de alteraciones que afectan la síntesis, la liberación, la difusión o la degradación de los factores que se sintetizan por el endotelio y se presenta una incapacidad del mismo para modular las funciones fisiológicas del lecho vascular. Los mecanismos responsables de estas alteraciones pueden originarse tanto por cambios en los receptores como de las señales intracelulares de transducción, o, incluso, por modificaciones en la respuesta de las células diana a los factores producidos por las células endoteliales. La DE no es homogénea en sus características, ni en su distribución, estos aspectos varían en dependencia de la enfermedad que esté presente, así como del lecho vascular afectado¹⁴.

Entre los mecanismos inductores de daño vascular, y en consecuencia, de DE y las enfermedades que se asocian con su aparición, se encuentran: el estrés oxidativo, la hiperhomocisteinemia, la dislipidemia, la hipertensión arterial (HTA), la obesidad, el hiperinsulinismo y la diabetes mellitus (DM). La DE se ha detectado en prácticamente todas las enfermedades vasculares, se presenta en muchos de los casos, incluso, antes de que aparezcan las manifestaciones clínicas¹⁴.

1.7.1 Disfunción endotelial y diabetes mellitus

Se sabe que la hiperglucemia crónica se asocia con un aumento de la formación de productos avanzados de la glicosilación (AGEs) y una hiperactividad del complejo aldosa reductasa-proteína cinasa C, lo cual provoca, por mecanismos complejos, un incremento del estrés oxidativo, fenómeno íntimamente ligado a la aparición de DE en los individuos que padecen DM¹⁴.

En la DM 2 se sabe que, además de la hiperglucemia, también influyen en la aparición de DE, la resistencia a la insulina y el hiperinsulinismo resultante. Por su parte, el 60 % de los individuos con DM 2 son hipertensos, el 50 % tiene algún grado de enfermedad coronaria y el 90 % es obeso, y en todos estos estados patológicos se ha demostrado la presencia de resistencia a la insulina¹⁴.

Con base en algunas evidencias experimentales de las que se dispone, se ha podido postular que la hemoglobina glucosilada no es solo un evaluador del grado de control metabólico, sino que también puede participar en la génesis de la DE. Una hemoglobina glucosilada elevada circulando libremente en el plasma, puede inducir la disminución de la relajación mediada por óxido nítrico (NO) mediante la generación de radicales superóxido¹⁴.

1.8 SINTASA DE ÓXIDO NÍTRICO (NOS)

En 1980 *Furchgott* y *Zawadzki* descubrieron la existencia de un factor vasorrelajante derivado del endotelio, y posteriormente lo denominaron óxido nítrico (NO). Esta sustancia se considera, en la actualidad, una de las más importantes producidas por la célula endotelial, se forma por medio de la conversión metabólica de la L-arginina en L-citrulina, reacción que es catalizada por la enzima óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS), y constituye el compuesto vasodilatador natural más importante del organismo¹⁴.

El óxido nítrico cumple una serie de funciones relacionadas con la homeostasis del sistema vascular como la regulación del tono de los vasos, inhibición de la agregación plaquetaria, inhibición de la adhesión y trasmigración leucocitaria, así como la ordenación de la proliferación y migración de las células musculares lisas, entre otras. De ello se deduce que la reducción de la actividad de esta molécula constituye uno de los elementos claves en todos los procesos fisiopatológicos que culminan en las enfermedades cardiovasculares¹⁶.

El NO es una molécula formada por dos átomos, un átomo de oxígeno (O) y otro de nitrógeno (N), con un electrón desapareado, lo que le permite interaccionar rápidamente con otros átomos que son abundantes en los sistemas biológicos, tales como el N y el azufre (S) que forman parte de las proteínas. La reacción del NO con las proteínas u otras moléculas se llama nitración y este proceso modifica la actividad fisiológica del mismo NO y de las proteínas¹⁷.

El NO también reacciona con átomos metálicos como el hierro (Fe), el cual forma parte de proteínas que se conocen como ferroproteínas o hemoproteínas, fundamentales en la regulación de un gran número de funciones biológicas y la generación de señales químicas intracelulares, también conocida como transducción de señales. Por otro lado, el NO reacciona rápidamente con el oxígeno molecular (O₂) y con los radicales libres superóxido ($\bullet$ O₂⁻) e hidroxilo ($\bullet$ OH), los cuales son sumamente tóxicos¹⁷.

El NO es una molécula pequeña y neutra, con una vida media muy corta de 0.5 segundos – 5 segundos que difunde libremente a través de la membrana celular. Por esta razón, alcanza rápidamente las moléculas que se encuentran en el interior de la célula, a diferencia de las proteínas y algunas hormonas que regulan la fisiología celular. La complejidad en la acción de estas moléculas requiere de receptores en la superficie celular para poder entrar o salir, no así en el caso del NO, cuyas propiedades químicas lo convierten en un excelente mediador de respuestas celulares produciendo una amplia gama de efectos biológicos. Por ello, la síntesis y regulación del NO es de suma importancia para el organismo¹⁷.

El NO, además de ser producido por los vasos sanguíneos de los mamíferos, se sintetiza en los macrófagos, células inmunes que responden ante la agresión por algunos agentes patógenos. En otros sistemas biológicos se produce por diversos mecanismos¹⁷.

1.8.1 Biosíntesis del óxido nítrico

Las células sintetizan el NO a partir de L-arginina, proceso efectuado por la enzima óxido nítrico sintasa (NOS), mediante dos reacciones sucesivas que requieren de NADPH y O₂. Hasta la fecha se han descrito tres isoformas de NOS, es decir, tres proteínas similares que sintetizan el mismo producto, pero en diferentes tejidos. Una de las enzimas se encuentra en la cara interna de los vasos sanguíneos y se le denomina endotelial o eNOS, otra isoforma se localiza en el tejido nervioso y se le conoce como nNOS. Hay una tercera isoforma que sintetiza

NO cuando las células reciben un estímulo y se le conoce como iNOS o isoforma inducible. Tanto la nNOS como la eNOS se localizan en el citoplasma y se producen continuamente, ambas son conocidas como enzimas constitutivas y requieren iones calcio. La eNOS y la nNOS liberan cantidades muy pequeñas de NO por cortos periodos de tiempo. La iNOS se sintetiza en algunas células inmunes, principalmente en los macrófagos y los neutrófilos. Esta enzima sintetiza cantidades mayores de NO por periodos de tiempo prolongados durante los procesos patológicos. Algunos investigadores han reportado una cuarta isoforma de la enzima NOS, cuya actividad se encuentra en las mitocondrias (mtNOS)¹⁶.

La eNOS funciona como un dímero, constituida de dos monómeros idénticos, que, a su vez, pueden ser divididos funcional y estructuralmente en dos dominios principales: un dominio C-terminal reductasa, homólogo al citocromo P450 y que contiene sitios de unión para NADPH, flavina mononucleótido (FMN) y flavina adenina dinucleótido (FAD), y un dominio N-terminal oxidasa, que sustrae un electrón del sustrato L-arginina y posee sitios de unión para el hierro hemo, para el cofactor tetrahidrobiopterina (BH4) y para la L-arginina. La reacción de catálisis de las NOS constitutivas envuelve dos niveles de oxidación: la hidroxilación de la L-arginina en NG-hidroxi-L-arginina, seguida de la oxidación de este intermediario con utilización de un electrón de la NADPH, formando L-citrulina y NO. Esa reacción consume 1,5 moles de NADPH y 2 moles de oxígeno por mol de L-citrulina formada. Cofactores como hierro hemo, BH4 y L-arginina han sido particularmente estudiados, y la baja biodisponibilidad de estos induce al fenómeno de la eNOS disfuncional. El hierro hemo es esencial para la dimerización de las tres isoformas, bajas concentraciones o ausencia de L-arginina catalizan la reducción del oxígeno en superóxido (O_2^-), y niveles disminuidos de BH4 llevan a la producción simultánea de NO y O_2^- , productos que reaccionan entre si formando peroxinitrito ($ONOO^-$)¹⁸. (Figura 1)

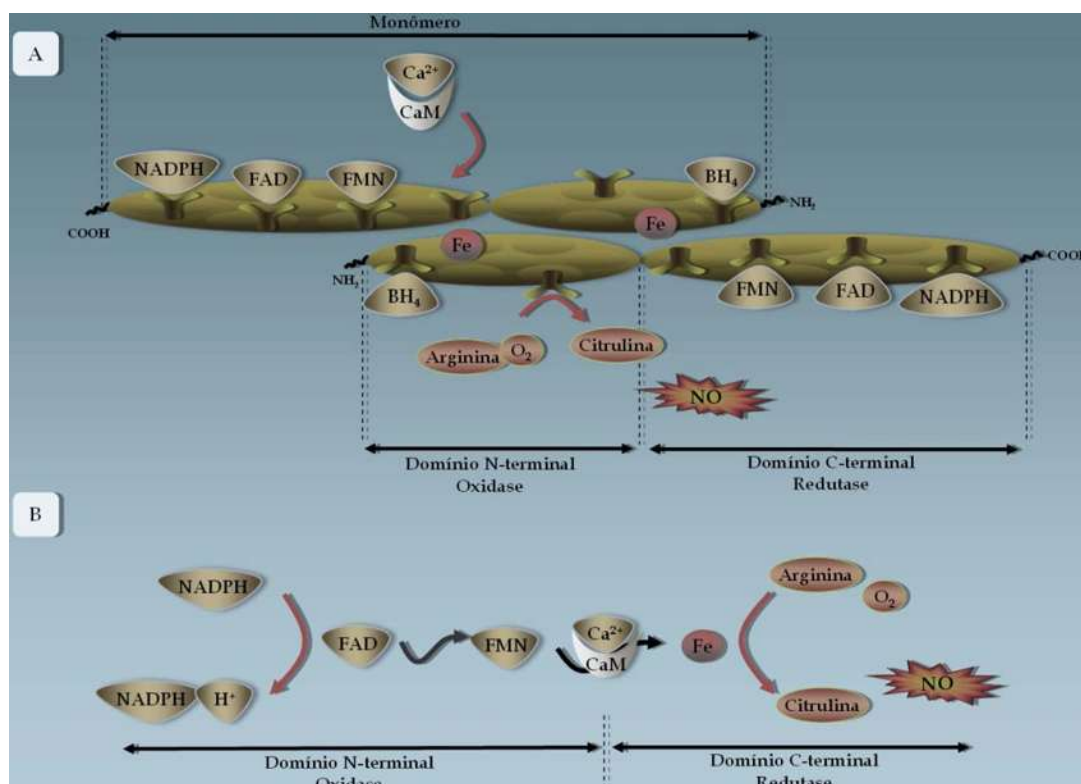


Fig. 1 - A) Modelo propuesto para la estructura dimérica de la eNOS. B) Transferencia de electrones entre los cofactores y sustratos de la estructura enzimática. El electrón fluye en el sentido NADPH → FAD → FMN del dominio reductasa de un monómero para el Fe del dominio oxidasa del monómero contralateral. En la figura A, observe que el flujo de electrones y la catálisis de la arginina son mostrados en apenas un lado de la enzima. La transferencia de electrones de un dominio para el otro es mediada por la calmodulina, lo que justifica la necesidad de su unión al sitio de reconocimiento para activación de la enzima y consecuente síntesis de NO. FAD - flavina adenina dinucleótido; FMN - flavina mononucleótido; BH₄ - tetraidrobiopterina; Fe - hierro hemo; CaM - calmodulina¹⁸.

La eNOS sintetiza el NO a partir de L-arginina mediante un paso de oxidación de 5 electrones por medio del intermediario NG-hidroxi-L-arginina. Los sustratos utilizados por esta enzima son el aminoácido L-arginina, el oxígeno molecular y la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido (NADPH). Los cofactores requeridos son la tetrahidrobiopterina (BH₄), la flavina adenina mononucleótido (FMN) y la flavina adenina dinucleótido (FAD). Además, la enzima contiene sitios de enlace para el grupo hemo y la calmodulina, siendo ambos esenciales para su actividad. Después del enlace de la calmodulina cargada de calcio con la eNOS entre el dominio reductasa COOH-terminal y el dominio oxigenasa NH₂-terminal de la enzima, los electrones son donados por el NADPH en el dominio reductasa, estos a su vez, son subsecuentemente transportado por intermedio del dominio del enlace a la calmodulina hacia el dominio oxigenasa que contiene el grupo hemo, lo cual resulta en la formación de los productos enzimáticos citrulina y NO¹⁶. (Figura 2.)

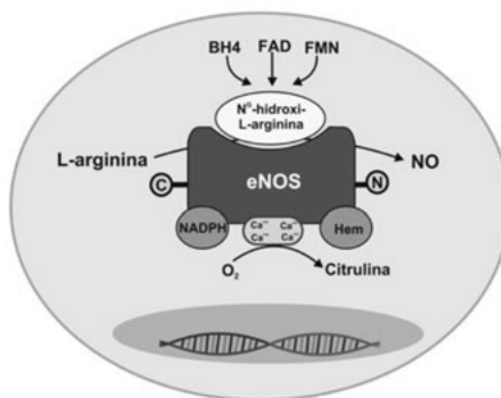


Figura 2. Biología de eNOS. El NO es producido principalmente por los leucocitos, las neuronas y las células endoteliales. En las últimas la eNOS sintetiza NO a partir de su sustrato la L-arginina mediante un paso de oxidación de 5 electrones por medio del intermediario NG-hidroxi-L-arginina.

1.8.2 Reducción de la producción de NO

Factores que disminuyen la expresión de la eNOS: Factor de necrosis tumoral (TNF- α), el cual desestabiliza el ARNm de eNOS (aparentemente por medio del incremento del enlace de proteínas reguladoras al extremo 3' de la molécula del ARNm.). Otros estímulos reportados como reductores de la estabilidad del ARNm incluyen lipopolisacáridos, hipoxia y altas concentraciones de las moléculas de las lipoproteínas de baja densidad oxidadas (LDL oxidadas)¹⁶.

1.8.3 Alteración de la función de la eNOS

La eNOS puede generar superóxido en lugar de NO, debido fundamentalmente a la disminución de su cofactor BH₄, denominado desacoplamiento de la oxidación de NADPH en la síntesis de NO. La generación de superóxido es mediada a través del grupo hemo en su dominio de oxigenasa y es dependiente de la presencia de su sustrato arginina y su cofactor BH₄. La concentración baja de eNOS genera superóxido¹⁶.

1.9 GLICOSILACIÓN AVANZADA

La diabetes mellitus (DM) es un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por un estado de hiperglucemia crónica que conduce, entre otras manifestaciones, a un envejecimiento prematuro y acelerado, tanto de la piel como de órganos internos¹⁹.

Este aumento persistente de la glucosa en sangre acelera la reacción entre azúcares y otras moléculas como las proteínas, los lípidos y los ácidos nucleicos produciendo modificaciones por reducción de azúcares llamada glicosilación no enzimática (GNE), o más recientemente denominada glicación. Ésta resulta en la formación de productos finales de la glicosilación avanzada (AGEs), que se entrecruzan irreversiblemente con muchas macromoléculas como el colágeno. Algunos AGEs están claramente relacionados con el control de la glucemia, mientras que otros se modifican con la edad¹⁹.

Las personas diabéticas tienen concentraciones séricas de AGEs más altas que las personas no diabéticas²⁰.

En la actualidad se sabe que los AGE se forman en personas diabéticas (y en mucho menor medida en no diabéticas con la edad avanzada) en presencia de hiperglicemia crónica, y pueden acumularse en proteínas de vida larga, como en el cristalino del ojo, en el colágeno de las membranas basales de los capilares retinales y glomerulares, y también en el componente proteico de la mielina en el sistema nervioso periférico²¹.

En el año 1912, Maillard fue el primero en reportar la formación de sustancias de color marrón por la reacción no-enzimática entre azúcares y aminoácidos. Los productos de glicosilación avanzada (AGEs) se forman por medio de la reacción de Maillard, proceso no enzimático entre el carbonilo libre de un azúcar reductor en su forma acíclica (mayoritariamente glucosa), y un grupo amino libre de una proteína (α-amino terminal o ε-amino de una lisina). A lo largo de esta reacción se pueden distinguir tres etapas: inicialmente se produce la asociación del azúcar con la proteína, formando un compuesto denominado base de Schiff, la estructura de este compuesto se reordena hacia una forma más estable, denominada producto de Amadori. Éste, posteriormente, sufre una serie de lentas y complejas transformaciones que conducen a la formación de compuestos generalmente coloreados y/o fluorescentes²².

1.9.1 Etapas de glicosilación

La glicación consta de 3 etapas:

- La primera es la formación de la base de Schiff por contacto del azúcar reductor con la proteína en un tiempo corto de horas¹⁹.
- La segunda es la propagación, por reordenamiento del compuesto anterior que es inestable, se forma el producto de Amadori que son cetoaminas más estables. La reacción de Amadori es reversible y ocurre en un tiempo aproximado de días a semanas. La interrupción del contacto del azúcar con la proteína en cualquiera de estas 2 etapas produce la reversión completa del efecto¹⁹.

Los residuos épsilon amino (—NH_3^+) son particularmente susceptibles de glicosilación, el producto Amadori tiene dos destinos: si la glicemia se normaliza, entonces éste se desglicosila, desprendiendo una molécula de proteína sin daño alguno. Sin embargo, la glucosa desprendida del producto Amadori no vuelve a ser glucosa, sino que se transforma en radicales libres violentamente oxidantes; en segundo lugar, si la hiperglicemia que generó el producto Amadori persistiera por años, entonces éste no se desglicosilaría, sino que sufriría nuevas reacciones oxidantes²¹.

- Por último en la etapa de formación se produce la reacción tardía de Maillard, irreversible y más lenta, en la que se forman los productos finales de la glicosilación no enzimática avanzada o AGEs de color amarronado, con estructura imidazólica, pirrólica y otras (iminas, furanos, piridinas, etc).¹⁷ (Figura 3). La fase de formación de AGE comienza en presencia de hiperglicemia persistente por años precisamente con la unión de la pirralina y de la N-carboximetilisina con una segunda proteína, formando “AGE no fluorescentes pero que forman puente”, llamados “puente DOLD” y “puente GOLD”. Al formarse estos puentes, se alteran irreversiblemente las estructuras terciaria y cuaternaria de las proteínas. Los puentes DOLD y GOLD no son los únicos AGE que se forman luego de décadas de hiperglicemia. También se generan AGE que forman puentes entre la lisina de una proteína con la arginina de otra. Entre ellos están “puente glucosspano” y el “puente pentosidina”, este último fluorescente²¹.

En condiciones fisiológicas la formación de AGEs está determinada por la concentración de azúcares reductores y por el tiempo de exposición de la proteína a los mismos (vida media de la proteína). En proteínas de recambio rápido, el proceso de glicosilación no enzimática no supera en general, las etapas iniciales (formación de la base de Schiff y eventualmente del producto de Amadori), mientras que sobre las proteínas de vida media larga se llegan a formar los productos de glicosilación avanzada²⁰.

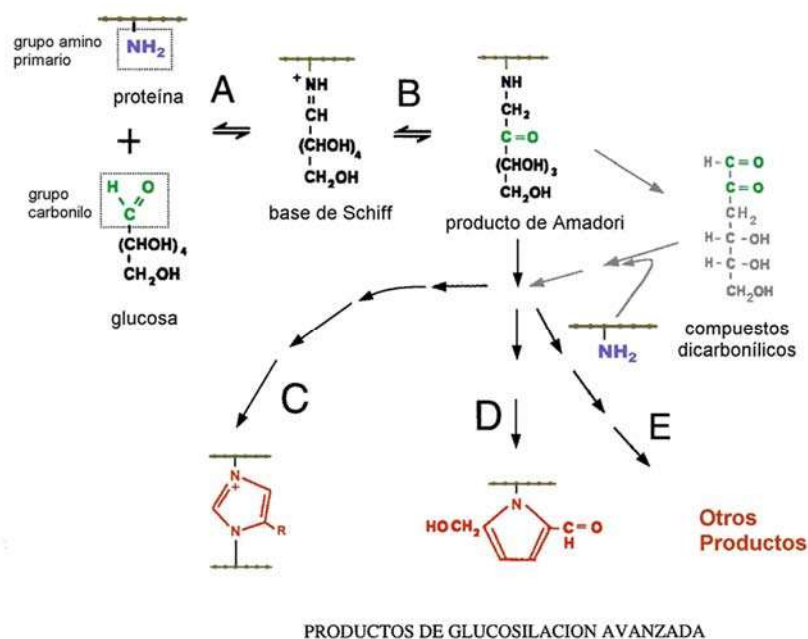


Figura 3.- Esquema de reacción del proceso de glicación no enzimática de proteínas. (A) Formación de la base de Schiff. (B) Reordenamiento de Amadori. A través de una serie de reacciones complejas los productos de Amadori pueden originar derivados con estructura imidazólica (C) pirrolica (D) y otras diversas (iminas, furanos, piridinas, etc)²⁰.

El destino de los AGEs en las personas diabéticas, es el cristalino del ojo, ya que las proteínas glicosiladas contribuyen a su opacificación y a la formación de cataratas, en los nervios periféricos, la glicosilación del componente proteico de la mielina hace a ésta apetecible para ser fagocitada por macrófagos que tienen receptores de AGE (RAGE), contribuyendo así a la génesis de la neuropatía diabética. En la retina del ojo y en el glomérulo del riñón, no sólo influye la glicosilación proteica, sino también otras vías metabólicas²¹.

Los AGEs pueden causar daño tisular por medio de dos mecanismos: *directamente*, produciendo fenómenos como, disminución de la resistencia de las proteínas a la acción proteolítica de las enzimas degradantes, entrecruzamiento y atrapamiento de proteínas, inducción de la oxidación lipídica e inactivación del NO, e *indirectamente*, mediante la inducción de quimiotaxia, estimulando la síntesis de citoquinas y la producción de matriz extracelular alterando la proliferación celular, aumentando la actividad plasmática procoagulante y la permeabilidad vascular, e incrementando el estrés oxidativo y el índice de mutación del ADN. Cuando se produce un aumento en la formación de AGEs secundario a la hiperglucemia, ocurre un incremento en la matriz extracelular y se alteran, entonces, las propiedades funcionales de varias moléculas importantes de la matriz endotelial, lo que acarrea la aparición de trastornos de la renovación y el crecimiento celular, y un aumento del daño vascular²³.

Los AGEs inducen un incremento de la producción del factor de necrosis tumoral alfa, la interleucina-1, el factor de crecimiento derivado de las plaquetas y del factor de crecimiento tipo 1 similar a la insulina (IGF-1), y en los monocitos-macrófagos, reprime la síntesis de NO. Asimismo, los AGEs también interfieren en las interacciones célula-matriz, como sucede en el caso de la modificación del colágeno tipo IV, lo que provoca una disminución de la adhesión de sus dominios de ligadura a las células endoteliales, y reducen la actividad de la trombomodulina en estas células²³.

Se ha planteado que los AGES pueden participar en el desarrollo de las complicaciones microvasculares y macrovasculares de la DM por medio de los siguientes mecanismos: ²³.

- Provocando modificaciones fisicoquímicas en disímiles biomoléculas y, en consecuencia, alteraciones estructurales y funcionales de las moléculas glucosiladas²³.
- Produciendo alteraciones de varios procesos biológicos, efecto mayormente mediado por la unión de las moléculas modificadas al receptor de AGEs²³.
- Incrementando la producción de radicales libres, con aumento del estrés oxidativo²³.

1.10 ESTRÉS OXIDATIVO

Los radicales libres (RL) son especies químicas (átomos, iones o moléculas) con un electrón desapareado en su orbital más externo, lo que le da una configuración espacial inestable y, por lo tanto, una gran capacidad de reaccionar con otras sustancias. En estas micropartículas no se evidencia la tendencia normal espontánea de los electrones localizados en los átomos y moléculas a la formación de parejas, y tienen una gran avidez para reaccionar, que se manifiesta tanto en las múltiples reacciones inespecíficas que se producen entre ellas como con diversas moléculas integrantes de la estructura celular (carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, fundamentalmente)²⁴.

Los RL de oxígeno (O₂) tienen un peso molecular bajo y se forman como consecuencia de reducciones univalentes subsecuentes del oxígeno; presentan una vida media muy corta y pueden reaccionar con las macromoléculas orgánicas modificando su estructura y función, por lo que son potencialmente citotóxicos y clastogénicos. Durante estas reacciones químicas se forman además, compuestos que no son RL de O₂, pues no presentan electrones impareados, pero que son sus

precursores o moléculas intermedias en la formación de éstos y son también potencialmente dañinos. Los RL de O_2 y estas últimas sustancias se denominan, en su conjunto, especies reactivas del oxígeno (EROs)²⁴.

1.10.1 Síntesis de radicales libres

Los RL se generan a nivel intracelular y extracelular y provienen de fuentes enzimáticas y no enzimáticas²⁴.

Enzimáticas:

- Transferencia de electrones en la mitocondria, lo cual constituye la fuente orgánica principal de RL.
- Enzimas oxidantes como la xantina-oxidasa, la indolamindioxigenasa, la triptofanodioxigenasa, la mieloperoxidasa, la galactosa-oxidasa, la ciclooxigenasa, la lipooxigenasa, la monoaminooxidasa y la NADPH oxidasa.
- Sistemas transportadores de electrones en el retículo endoplásmico y las membranas nucleares.
- Peroxisomas, organelos del citosol muy ricos en oxidasas y que constituyen una importante fuente de H_2O_2 ²⁴.

No enzimáticas:

- Autooxidación de flavinas reducidas, tioles y pequeñas moléculas como hidroxiquinonas, catecolaminas y tetrahidropterinas²⁴.

Se conoce como estrés oxidativo al desbalance entre los radicales libres y los agentes antioxidantes. Recientemente, se ha sugerido que la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ERO) y especies reactivas de nitrógeno (ERN) generadas principalmente dentro de la mitocondria, puede ser la clave central en muchas de las patologías de la diabetes. Además, dado que las mitocondrias de las células juegan un papel central en la secreción de insulina en el páncreas, estimulada por glucosa, el daño a nivel mitocondrial puede contribuir a la atenuación de esta respuesta. Por lo tanto, la generación de ERO y el daño oxidativo pueden contribuir a la aparición, progresión y complicaciones de la diabetes tipo 1 y 2 ²⁵.

Existen varios mecanismos implicados en el incremento del estrés oxidativo (EO) en la diabetes mellitus, entre los cuales se encuentran: la autooxidación de la glucosa, la glicación de proteínas, la activación de la vía de los polioles y la disminución de las defensas antioxidantes²⁴.

La interacción de los productos finales de la glicación avanzada (AGEs) con sus receptores celulares promueve la producción intracelular de RL y contribuye a disminuir los niveles intracelulares de antioxidantes. Asimismo, el glioxal, especie derivada de la oxidación de la glucosa, puede generar citotoxicidad mediada por un incremento de la generación de ERO y una disminución del glutatión (GSH) intracelular. Por otro lado, la glicación de las proteínas antioxidantes puede disminuir la actividad de éstas y la hemoglobina glicada puede constituir una fuente donadora de radical O_2 a la pared vascular en los diabéticos²⁴.

Los mecanismos propuestos de las alteraciones que caracterizan a este proceso son principalmente dos: la glicosilación no enzimática de proteínas y de lípidos celulares (la unión covalente de una o más moléculas de glucosa a estos sustratos); y el exceso de producción de especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno, en particular las originadas a nivel de las proteínas mitocondriales glicosiladas (Figura 4)²⁶.

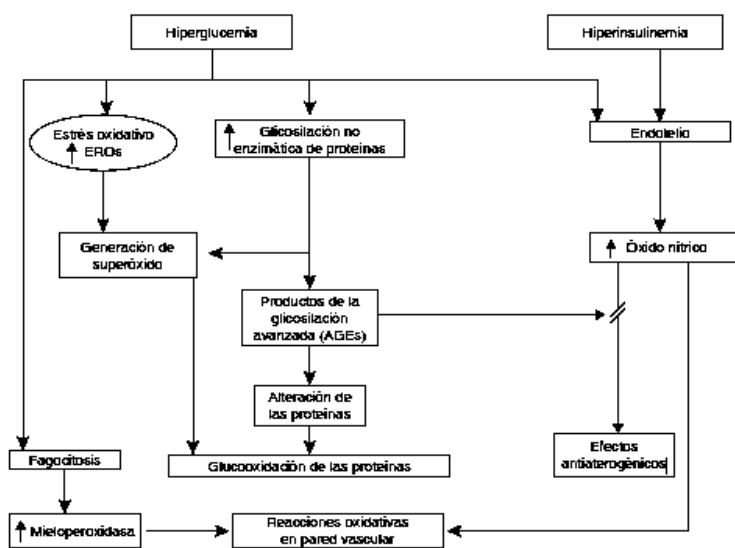


Figura 4. Mecanismos de estrés oxidativo y productos avanzados de glicosilación que se presentan en la memoria metabólica²⁶.

Se ha demostrado que la hiperglucemia favorece la producción de O_2 mitocondrial, lo que ocasiona, entre otros efectos adversos, la activación de la vía de los polioles (vías de los hexosominas) y, consecuentemente, una disminución de NADPH, que constituye el cofactor de las enzimas generadoras de GSH²⁴.

En los individuos diabéticos existe también disminución de las defensas antioxidantes, además del GSH, y todas las enzimas y vitaminas antioxidantes, y

un aumento del estrés nitrosante, lo que implica un incremento del RL peroxinitrito, potente oxidante lipídico y proteico, y de la actividad de la proteína cinasa C²⁴.

Numerosos estudios han demostrado la abundante presencia de productos derivados de la peroxidación lipídica en la sangre y tejidos de los sujetos diabéticos²⁴.

El procedimiento más comúnmente utilizado para cuantificar el grado de lipoperoxidación en los tejidos y fluidos humanos, es la medición del malonildialdehído (MDA) acoplado a ácido tiobarbitúrico, cuyo resultado es el aducto cromogénico llamado TBARS (sustancia reactiva al ácido barbitúrico)²⁴.

Los daños derivados de la oxidación pueden afectar tanto a los lípidos de las membranas celulares como a los contenidos en las lipoproteínas plasmáticas. El daño oxidativo de las proteínas tiene una bioquímica muy compleja. La modificación oxidativa de las proteínas incrementa su degradabilidad y susceptibilidad a la proteólisis, lo cual implica, específicamente, una más rápida ubiquitinización y degradación por la vía lisosomal. Asimismo, la alteración de la proteólisis por los RL se manifiesta tanto en el catabolismo proteico intracelular como en los sistemas proteicos extracelulares, en especial, en las proteínas de la matriz extracelular²⁴.

En los individuos diabéticos, el estrés oxidativo provoca cambios químicos y estructurales en la insulina y, como consecuencia, una pérdida de su función 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. Por otra parte, el estrés carbonílico también puede afectar a los receptores insulínicos y a las moléculas implicadas en la respuesta celular adecuada a la estimulación insulínica²⁴.

1.10.2 Memoria metabólica y estrés oxidativo

Brownlee ha señalado recientemente la presencia de un exceso de aniones superóxido ($\bullet\text{O}_2^-$) en las mitocondrias de las células endoteliales, en respuesta a la hiperglucemia, y a la formación de complicaciones diabéticas. La hiperglucemia favorece, a través de la activación del NF- $\kappa\beta$, un aumento de la expresión de NADPH y de iNOS, que provocará un exceso de NO y de $\bullet\text{O}_2^-$. Se cree que el NO contribuye a producir disfunción endotelial de dos formas distintas: en primer lugar, el $\bullet\text{O}_2^-$ puede reaccionar también directamente con el NO, atenuándolo, con lo que se reduce la eficacia de un potente sistema vasodilatador derivado del endotelio, y la evidencia existente sugiere que durante la hiperglucemia se produce una disminución de la disponibilidad de NO; en segundo lugar la sobreproducción de $\bullet\text{O}_2^-$, cuando se acompaña de un aumento de la generación de NO, favorece la formación del oxidante potente ONOO- (anión peroxinitrito), y se ha descrito una sobreproducción de $\bullet\text{O}_2^-$ y NO en respuesta a la hiperglucemia.

La posibilidad de que la diabetes se asocie a un aumento de la formación de ONOO⁻ está respaldada por la reciente detección de un aumento de las concentraciones plasmáticas de nitrotirosina en los pacientes con diabetes tipo 2²⁷.

En estudios aleatorizados amplios se ha establecido que un control intensivo temprano de la glucemia reduce el riesgo de complicaciones diabéticas, tanto microvasculares como macrovasculares. Sin embargo, los datos epidemiológicos y prospectivos respaldan la existencia de una influencia a largo plazo del control metabólico inicial sobre la evolución clínica posterior. A este fenómeno se le ha denominado recientemente “memoria metabólica”. Los posibles mecanismos para la propagación de esta “memoria” son la glicación no enzimática de proteínas y lípidos celulares, y el exceso de especies moleculares de nitrógeno y oxígeno reactivas celulares, en especial las originadas en las proteínas mitocondriales glicadas, que tal vez actúen de manera concertada entre sí para mantener las señales de estrés. Además, la aparición de esta “memoria metabólica” sugiere la necesidad de un tratamiento enérgico muy temprano destinado a “normalizar” el control metabólico y de la adición de fármacos que reduzcan las especies moleculares reactivas celulares y la glicación, además de normalizar las concentraciones de glucosa de los pacientes, para reducir al mínimo las complicaciones diabéticas a largo plazo²⁷.

Se ha sugerido la sobreproducción mitocondrial de $\bullet\text{O}_2^-$ en la hiperglucemia como “*hipótesis unificadora*” para explicar el desarrollo de complicaciones diabéticas. Parece razonable pensar, que las mitocondrias desempeñen también un papel importante en la propagación de la “memoria metabólica”. Se cree que la hiperglucemia crónica altera la función mitocondrial a través de la glicación de las proteínas mitocondriales. Las concentraciones de metilglioxal (MGO), un producto α -dicarbonilo derivado de la glucólisis que es altamente reactivo, están aumentadas en la diabetes. El MGO reacciona con facilidad con la arginina, la lisina y los grupos sulfhídrico de las proteínas, además de los ácidos nucleicos, induciendo la formación de diversos AGE estructuralmente identificados, tanto en las células diana como en el plasma. El MGO tiene un efecto inhibitor sobre la respiración mitocondrial, y las modificaciones inducidas por el MGO tienen efectos específicos en determinadas proteínas mitocondriales. Estas premisas son importantes puesto que un estudio reciente ha descrito, por primera vez, una relación directa entre la formación de AGE intracelulares a partir de las proteínas mitocondriales, la disminución de la función mitocondrial y el exceso de formación de especies moleculares reactivas. Así, las proteínas de la cadena respiratoria mitocondrial que sufrían una glicación eran propensas a producir más $\bullet\text{O}_2^-$, independientemente del grado de hiperglucemia existente²⁷.

En resumen, la glicación de las proteínas mitocondriales puede formar parte de la explicación del fenómeno de la “memoria metabólica”. En las mitocondrias glicadas hay una sobreproducción de radicales libres, independientemente de la

glucemia real, que mantiene la activación de las vías involucradas en la patogenia de las complicaciones diabéticas²⁶. En otras palabras, puede plantearse la hipótesis de que en la “memoria metabólica” la cascada de procesos sea la misma que la propuesta por Brownlee el origen del $\bullet\text{O}_2^-$ continúan siendo las mitocondrias pero que, además, la producción de especies moleculares reactivas no está relacionada con la presencia de hiperglucemia y depende del nivel de glicación de las proteínas mitocondriales²⁷. Figura 5

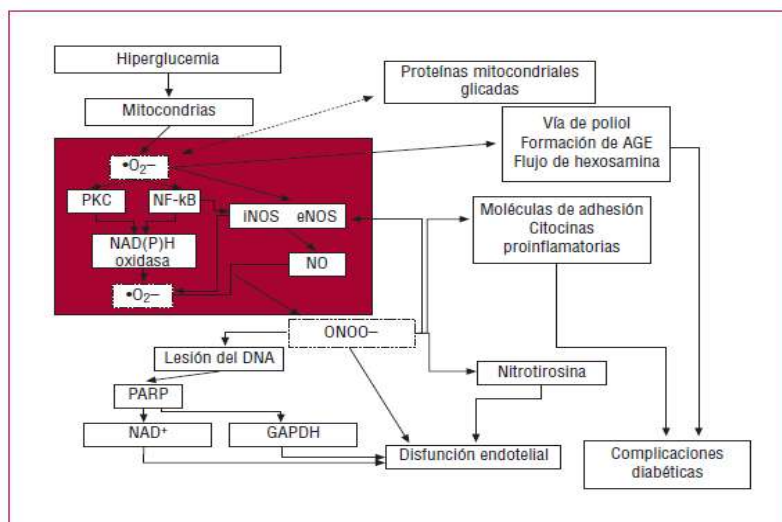


Figura 5. Vías que intervienen en la patogenia de las complicaciones diabéticas.

La hiperglucemia intracelular induce una sobreproducción de superóxido a nivel mitocondrial. Esto constituye el primer proceso crucial en la activación de todas las demás vías que intervienen en la patogenia de las complicaciones diabéticas, como el flujo de la vía del poliol, el aumento de la formación de AGE, la activación de proteincinasa C y la NFκB y el aumento de flujo en la vía de hexosamina.

Las proteínas mitocondriales sufren una glicación en la hiperglucemia y este efecto induce una superproducción de aniones superóxido en las mitocondrias. En este caso, a pesar de que la glucemia se reduzca o se normalice, las mitocondrias glicadas continúan sobreproduciendo superóxido, con lo que activan las mismas vías que intervienen en la generación de las complicaciones diabéticas. Esta hipótesis puede contribuir a explicar la aparición de la denomina “memoria metabólica”²⁷.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA A INVESTIGAR

La disfunción endotelial, en el ser humano, es causada por varios factores como sobrepeso, obesidad, hiperglicemia, estrés oxidativo, hipertensión, mal nutrición, malos hábitos higiénico dietéticos, etc, estos factores pueden presentarse simultáneamente en las personas, lo que presumiblemente lleve a un grado mayor de disfunción endotelial, y no hay reportes suficientes sobre el impacto de las comorbilidades en la disfunción endotelial.

El conocer el deterioro de la disfunción endotelial presente en las personas, que muestren morbilidad asociada entre hiperglicemia y sobrepeso – obesidad, permitirá prevenir y tratar las enfermedades crónicas degenerativas y diseñar estrategias de atención primaria en salud, lo que nos estimula a preguntarnos:

¿Cuál es el grado de deterioro de la función endotelial en los pacientes con la comorbilidad hiperglicemia y sobrepeso-obesidad?

III. JUSTIFICACIÓN

La diabetes es un problema de salud pública que afecta a 6.4 millones de personas en México según la encuesta ENSANUT 2012, y también en México ha evolucionado desfavorablemente el problema de la obesidad y el sobrepeso, la encuesta ENSANUT 2012 reportó que en México hay 37.5% de mujeres con obesidad, 26.8% de hombres con obesidad, 42.5% de hombres con sobrepeso y 35.9% de mujeres con sobrepeso, por lo que existe una probabilidad alta de comorbilidad entre el estado de hiperglicemia y obesidad y/o sobrepeso. La disfunción endotelial se ha reportado de manera independiente en los procesos de hiperglicemia o en dislipidemias, y ambos estados puede estar asociados o no con sobrepeso y/o obesidad, pero no existen reportes que indiquen la influencia de la comorbilidad en los casos de disfunción endotelial. Por lo tanto se pretende determinar la función de la sintasa del óxido nítrico mediante la detección de nitritos plasmáticos en personas que presenten la comorbilidad hiperglicemia – obesidad y/o sobrepeso.

IV. HIPÓTESIS

La función endotelial se deteriora en mayor grado con la comorbilidad hiperglicemia y sobrepeso-obesidad.

V. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Analizar la función endotelial en personas que acuden a la consulta externa del Hospital General “Dr. Miguel Silva” y presenten la morbilidad asociada hiperglicemia - sobrepeso y/o obesidad.

5.2 Objetivos específicos

Revisar otros factores de riesgo que se asocien al estado de función endotelial.

Evaluar la producción de nitritos en sujetos que presenten simultáneamente hiperglicemia y sobrepeso-obesidad.

Determinar un indicador de estrés oxidativo en personas que presenten la comorbilidad hiperglicemia – sobrepeso y/o obesidad.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Detección de pacientes que cumplan con criterios de inclusión

Se incluyeron 194 pacientes que acudieron a una consulta externa del laboratorio de análisis clínicos de un Hospital General “Dr. Miguel Silva”, en la ciudad de Morelia Michuacán de los cuales se dividieron en tres grupos, 1) hiperglicemia y sobrepeso-obesidad, 2) normoglicemia y sobrepeso-obesidad, y 3) normoglicemia y peso normal, este grupo se considera el grupo control.

En los grupos señalados se determinó la glucosa sanguínea tomando como valores de referencia normales 60-110 mg/dL, valores de personas pre diabéticas o con tratamiento de control 110-140 mg/dL, y valores de personas diabéticas >140 mg/dL.

De los cuales 119 pacientes con hiperglicemia y sobrepeso-obesidad, 14 normoglicémicos con sobrepeso-obesidad y 61 normoglicémicos con peso normal.

Revisión de expedientes del paciente

6.2 Criterios de inclusión

Personas con:

Hiperglicemia

Obesidad y/o sobrepeso

Historia clínica completa

Muestra sanguínea suficiente

Mayores de 18 años.

El grupo control debe integrarse con personas:

Normoglicémicas

Peso normal

Historia clínica completa

Muestra sanguínea suficiente

Mayores de 18 años.

6.3 Criterios de exclusión

Personas con:

Enfermedades crónico-degenerativas diferentes a diabetes; hipertensión, síndrome metabólico.

Embarazadas.

Alteración en parámetros diferentes a glucosa sanguínea.

6.4 Criterios de eliminación

Personas cuya muestra sanguínea se deteriore antes de llevar a cabo las detecciones de nitritos/nitratos y radicales libres.

6.5 Recolección de las muestras

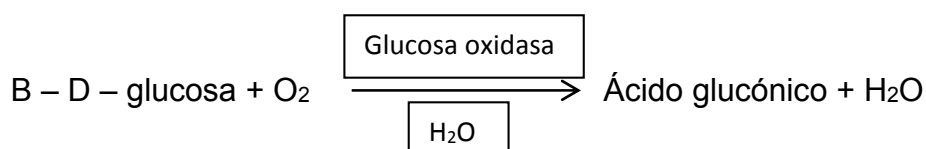
Se seleccionaron las muestras que presentaron niveles de glucosa sanguínea elevada durante 12 meses, se conservó una alícuota del suero en refrigeración, para realizar las detecciones de nitritos y radicales libres. Posteriormente, se revisó el expediente clínico de las personas, que se encuentran en el archivo clínico del Hospital General, utilizando el nombre del paciente para identificar el número de expediente en la base de datos existente en el archivo clínico. Del expediente clínico se recolectaron los datos contenidos en la hoja de captura de información que se encuentra en el anexo I, con la finalidad de saber si la muestra seleccionada cumplía con los criterios de inclusión, en caso contrario se desechaban las muestras.

6.6 Determinación de glucosa

El sistema SYNCHRON determina la concentración de GLUCm mediante el método cinético que emplea el electrodo para oxígeno de Beckman Coulter.

Un volumen preciso de muestra (10 microlitros) es inyectado en una cubeta de reacción que contiene solución de glucosa oxidasa. La porción es una parte de muestra a 76 partes de reactivo. La velocidad pico de consumo de oxígeno es directamente proporcional a la concentración de GLUCm en la muestra.

El oxígeno se consume a la misma velocidad en la que la glucosa reacciona para formar ácido glucónico.



Debido a que se mide el consumo de oxígeno en vez de la formación de peróxido, el único requisito es que el peróxido debe ser destruido de tal forma que no vuelva a formar oxígeno. Según la siguiente reacción, la adición de etanol al reactivo

hace que el peróxido, en presencia de la catalasa, se destruya sin producir oxígeno:



Para asegurar la destrucción completa del peróxido, se agrega yoduro y molibdato al reactivo enzimático, lo que produce la siguiente reacción:



La reacción será efectiva aun después de que la actividad de la catalasa haya disminuido con el tiempo de almacenamiento.

6.7 Determinación de nitrito/nitrato

Se determinó la concentración sérica de óxido nítrico a través de sus productos de degradación, los nitritos, mediante diazotización (reacción de Griess). La reacción de Griess se basa en la formación de un cromoforo por la reacción de sulfanilamida con nitrito en medio ácido, seguido de un acoplamiento con aminas bicíclicas tales como el N-1-(naftil) etilendiamina dihidrocloruro. El cual mide la concentración de óxido nítrico en fluidos biológicos. La reacción colorimétrica se obtuvo agregando a 400 μL de suero desproteinizado, 800 μL de sulfanilamida al 1% y se completa un volumen final de 2000 μL con 800 μL N-naftil-etilendiamina al 0.1% y el producto de la reacción fue medido en un espectrofotómetro RA50 Chemistry Analyzer de BAYER a una longitud de onda de 546 nm, cuya magnitud es directamente proporcional a la concentración de nitritos. Como estándar se utilizó NaNO_2 ($1 \times 10^{-4}\text{M}$). La concentración se expresó como μmolar (μM).

6.8 Determinación de malondialdehído

Los niveles de peroxidación lipídica fueron determinados mediante una modificación del método del ácido tiobarbitúrico (TBARS), se agregó a cada muestra 800 μL de una solución ácida compuesta por ácido tricloroacético 15%, TBA 0.375% y HCl 0.25 N. Posteriormente, las muestras se calentaron en un baño de agua hirviendo durante 15 minutos utilizando una plancha caliente (corning modelo PC-420), fueron enfriadas en hielo y centrifugadas a 2500 rpm durante 8 minutos en una centrifuga (J-600).

Por último, se extrajo el sobrenadante y se leyó en un espectrofotómetro RA50 Chemistry Analyzer de BAYER a 532nm. Los resultados fueron expresados como micromolar (μM) especies reactivas al TBA (TBARS) y fueron calculados en base al coeficiente de extinción molar (ϵ) de malondialdehído de $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

6.9 Determinación de sobrepeso – obesidad

Se utilizó el índice de masa corporal (IMC) que es una medida de asociación entre el peso y la talla de un individuo, se conoce como índice de Quetelet de acuerdo con la siguiente expresión matemática.

$\text{IMC} = \text{masa} / (\text{estatura})^2$ expresado con las unidades Kg/m^2

Los datos de masa y estatura utilizados en el presente trabajo se recolectaron del expediente clínico de las personas.

Se consideró un valor de IMC normal de $19 - 24.9 \text{ Kg/m}^2$, en sobrepeso el IMC fue de $25 - 29.9 \text{ Kg/m}^2$, y en obesidad el IMC fue igual o mayor a 30 Kg/m^2 .

En el caso de la obesidad no se hizo diferenciación entre obesidad leve, obesidad media y obesidad mórbida, estos criterios están de acuerdo con la clasificación con la OMS del estado nutricional basado en el IMC.

6.10 Recolección de información general del paciente

Se recolectaron todos los datos generales de la población en estudio a partir del expediente clínico y se vaciaron en el anexo I (Ver Anexos).

6.11 Procesamiento y presentación de la información

Con los datos generados se realizó estadística descriptiva y se obtuvo el valor promedio, la desviación estándar y el error estándar de las variables estudiadas. Se analizaron los datos estadísticamente para obtener diferencias entre promedios utilizando análisis de varianza y pruebas de contraste, o pruebas de “t” de Student según corresponda. Se consideró como significativo un valor de $p \leq 0.05$. También se generaron gráficos de barras, de dispersión, y tablas con los datos anteriores.

6.12 Aspectos éticos

El presente trabajo cumplió con los criterios para investigación en salud señalados en el reglamento general de salud para materia de investigación en humanos y de acuerdo con los procedimientos utilizados se consideró un trabajo de riesgo mínimo. A las personas que participaron en el presente trabajo se les solicitó que donaran una alícuota de la muestra biológica que fue utilizada para determinar sus

niveles de glucosa sanguínea y otros parámetros de interés particular para cada paciente.

Las muestras biológicas y los materiales contaminados, se manipularon de acuerdo con la **norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002**, para el manejo de los residuos peligrosos biológicos infecciosos, y se contó con los contenedores apropiados para el desecho de materiales contaminados con muestras biológicas y también para punzocortantes.

VII. RESULTADOS

El grupo control estuvo conformado por personas con peso normal, normoglucémicos, y normotensos, en las personas con sobrepeso se observó una mayor frecuencia en los casos de pre diabetes y diabetes dando un total de 55 personas, en tanto que se reportan 16 personas con sobrepeso pero sin diagnóstico de diabetes. En los pacientes con obesidad la mayor frecuencia se observa en los pacientes hiperglicemicos, ya que 30 personas presentaron hiperglicemia más 18 con hiperglicemia pero sin diagnóstico de diabetes, y solo 8 personas con obesidad y cifras normales de glucosa (Tabla 2).

En el caso de las personas con sobrepeso la mayoría no presento hipertensión ya que 45 personas se encontraron normotensos contra 28 hipertensos (Tabla 2). En los pacientes obesos la hipertensión se encontró con mayor frecuencia 27 pacientes, en tanto que obesos y normotensos fueron 25 personas (Tabla 2).

Tabla 2.- Distribución de frecuencia de pacientes de acuerdo con el diagnóstico y la glucosa sanguínea. Distribuidos en grupos: Control (n=61), Sobrepeso (n=77) y Obesidad (n=56), y en diferentes rangos de glucosa (60-110 mg/dL, 110-140 mg/dL, y >140 mg/dL).

DIAGNOSTICO	GRUPO CONTROL	SOBREPESO				OBESIDAD		
	60-110 mg/dl	60-110 mg/dl	110-140 mg/dl	>140 mg/dl	60-110 mg/dl	110-140 mg/dl	>140 mg/dl	
DM	0	3	14	41	2	10	20	
NO DM	61	3	13	3	6	12	6	
HTA	0	5	9	19	4	13	14	
NO HTA	61	0	18	26	4	8	13	

En relación con los hábitos higiénicos – dietético se encontró que la frecuencia mayor pertenece al sedentarismo ya que está presente en 64 pacientes con sobrepeso y en 44 pacientes con obesidad (Tabla 3). Comparados con pacientes no sedentarios en donde 9 tienen sobrepeso y 5 obesidad. En relación al alcoholismo y tabaquismo la mayoría de las personas con sobrepeso y obesidad no refieren consumo de alcohol ni tabaco (Tabla 3).

Tabla 3.- Distribución de pacientes de acuerdo a hábitos higiénicos – dietéticos y su glucosa sanguínea. Distribuidos en grupos: Control (n=61), Sobrepeso (n=77) y Obesidad (n=56), y en diferentes rangos de glucosa (60-110 mg/dL, 110-140 mg/dL, y >140 mg/dL).

HABITOS HIGIENICOS - DIETETICOS	GRUPO CONTROL	SOBREPESO			OBESIDAD		
	60-110 mg/dl	60-110 mg/dl	110-140 mg/dl	>140 mg/dl	60-110 mg/dl	110-140 mg/dl	>140 mg/dl
ALCOHOLISMO	0	1	12	14	2	4	4
NO ALCOHOLISMO	61	4	16	30	6	17	23
TABAQUISMO	0	1	12	9	3	2	1
NO TABAQUISMO	61	4	16	35	5	20	25
SEDENTARIO	0	2	24	40	6	22	22
NO SEDENTARIO	61	3	4	4	2	0	4

Respecto a los antecedentes familiares, los pacientes con sobrepeso y obesidad presentaron mayor frecuencia la diabetes mellitus como antecedente familiar, ya que se observó en 61 pacientes con sobrepeso y en 41 con obesidad (Tabla 4). En tanto que antecedente familiares de hipertensión arterial se observaron con igual frecuencia en 26 los pacientes con sobrepeso y obesidad.

Tabla 4.- Distribución de pacientes de acuerdo a antecedentes familiares y su glucosa sanguínea. Distribuidos en grupos: Control (n=61), Sobrepeso (n=77) y Obesidad (n=56), y en diferentes rangos de glucosa (60-110 mg/dL, 110-140 mg/dL, y >140 mg/dL).

ANTECEDENTES FAMILIARES	GRUPO CONTROL	SOBREPESO			OBESIDAD		
	60-110 mg/dl	60-110 mg/dl	110-140 mg/dl	>140 mg/dl	60-110 mg/dl	110-140 mg/dl	>140 mg/dl
DM	16	5	22	34	5	16	20
HTA	6	3	12	11	6	8	12
OTROS	0	0	2	3	0	2	1

En relación a los medicamentos el consumo con mayor frecuencia correspondió al grupo de hipoglucemiantes en los pacientes con sobrepeso y obesidad con valores de glucosa >140 mg/dl (Tabla 5).

Tabla 5.- Distribución de pacientes de acuerdo a algunos medicamentos consumidos y su glucosa sanguínea. Distribuidos por grupos: Control (n=61), Sobrepeso (n=77) y Obesidad (n=56), y en diferentes rangos de glucosa (60-110 mg/dL, 110-140 mg/dL, y >140 mg/dL).

MEDICAMENTOS	GRUPO CONTROL	SOBREPESO			OBESIDAD		
	60-110 mg/dl	60-110 mg/dl	110-140 mg/dl	>140 mg/dl	60-110 mg/dl	110-140 mg/dl	>140 mg/dl
HIPOGLUCEMIANTES	0	3	13	35	1	9	18
ANTIHIPERTENSIVOS	0	4	9	13	3	9	8
OTROS MEDICAMENTOS	0	2	5	5	2	6	6

7.1 DATOS GENERALES DE LA POBLACIÓN

En la figura 6 se observa que el 65% de los pacientes fue del sexo femenino con mayor frecuencia sobre el sexo masculino con un 35%.

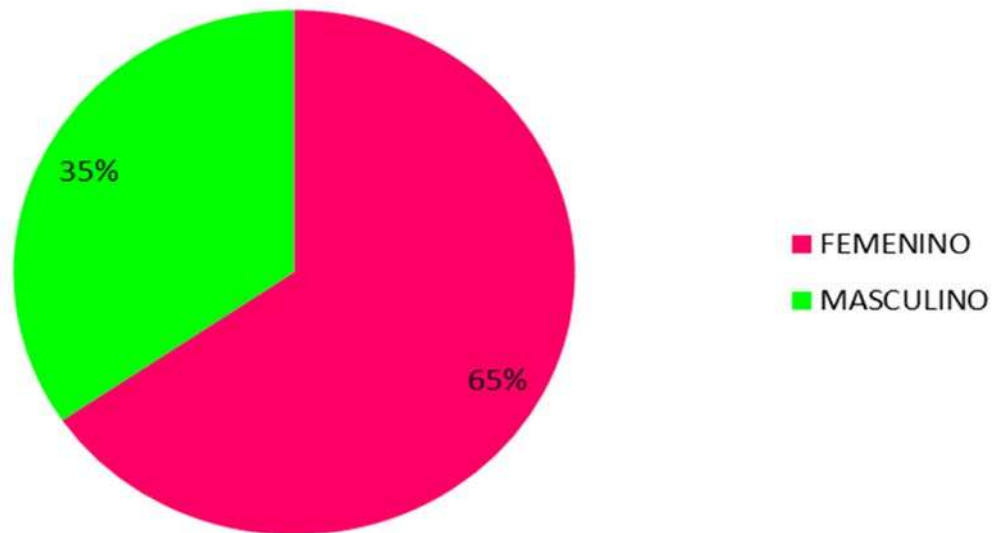


Figura 6. Distribución por género de los pacientes que acudieron al laboratorio (n= 194) del Hospital General “Dr. Miguel Silva”.

En la figura 7 se muestra la distribución de todos los pacientes de acuerdo a la edad, observando una mayor frecuencia de 44 a 53 años, de ambos sexos.

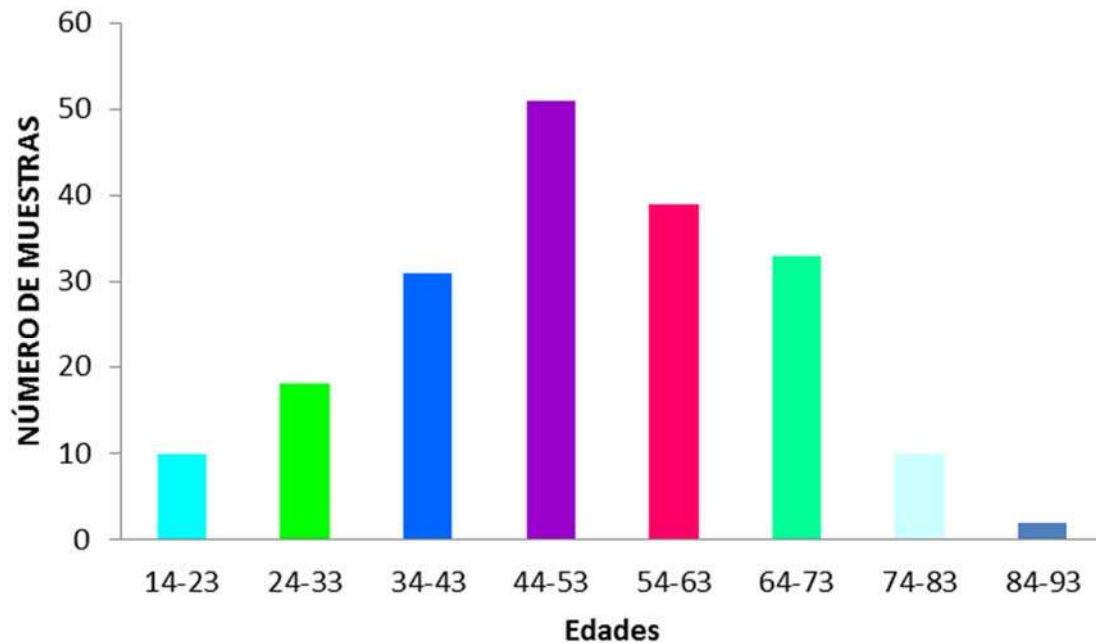


Figura 7.- Distribución por edades de los pacientes que acudieron a consulta externa (n=194) del Hospital General “Dr. Miguel Silva”.

En la figura 8 se muestra la distribución de los pacientes de acuerdo a la edad, la edad más frecuente encontrada en los pacientes con la morbilidad asociada hiperglicemia y sobrepeso-obesidad fue de 45 a 54 años, de ambos sexos.

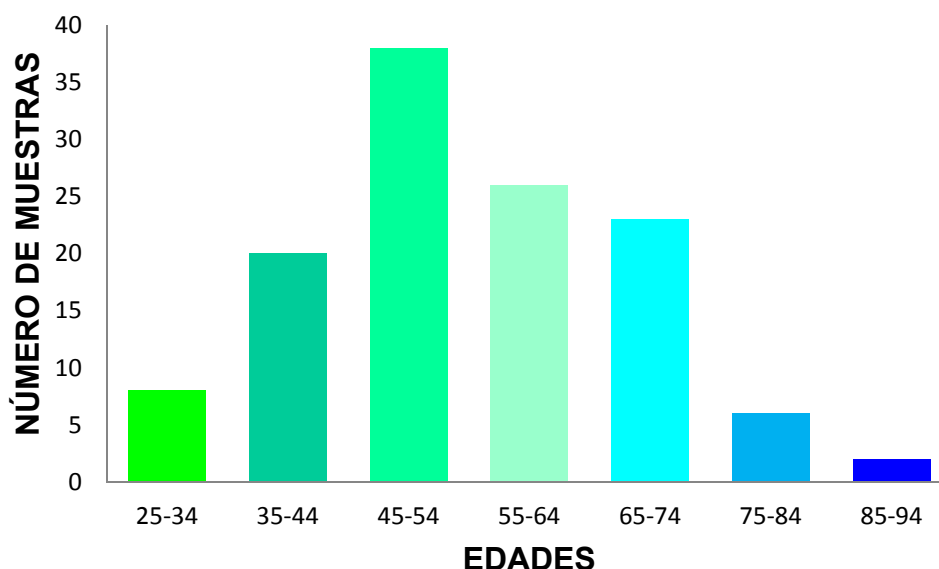


Figura 8.- Distribución por edades de los pacientes con la morbilidad asociada hiperglicemia y sobrepeso-obesidad (n=133), que acudieron a consulta externa del Hospital General “Dr. Miguel Silva”.

En la figura 9 se observan los niveles de glucosa en ayunas de los pacientes en general de cada grupo, donde los grupos de sobrepeso y obesidad son estadísticamente significativos en comparación con el grupo control, pero no entre estos dos grupos. Esto se relaciona directamente con el diagnostico de los pacientes presentado en la Tabla 2.

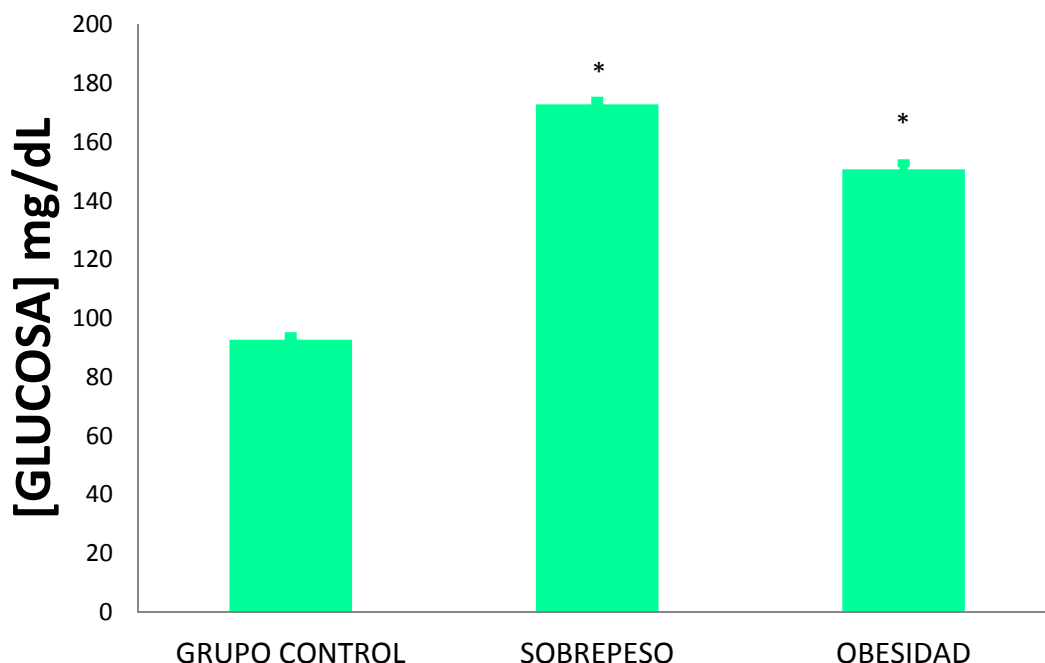


Figura 9.- Cuantificación de los niveles de glucosa. Los valores representan el promedio de concentración plasmática de cada uno de los grupos comparados con el grupo control (n=61), sobrepeso (n=77) y obesidad (n=56). La significancia de * $p < 0.05$ fue calculada tras aplicar un análisis estadístico ANOVA seguido de la prueba de Post hoc de Tukey.

En la figura 10 se observan los niveles de glucosa en ayunas de las personas que acudieron a consulta externa al laboratorio de análisis clínico, categorizados de acuerdo a sus cifras de glucosa en normoglicémicos (60-110 mg/dl), pre-diabéticos o diabéticos controlados (110-140 mg/dl) y diabéticos (>140 mg/dl). Las condiciones de pre-diabetes y diabetes en los grupos de sobrepeso y obesidad son estadísticamente significativos en comparación con el grupo control, observando también diferencia estadísticamente significativa los pacientes diabéticos con sobrepeso en comparación con los pre diabéticos y normoglicémicos que presentan sobrepeso, de igual manera los pacientes diabéticos obesos son estadísticamente significativos en comparación con los pre diabéticos y normoglicémicos con obesidad.

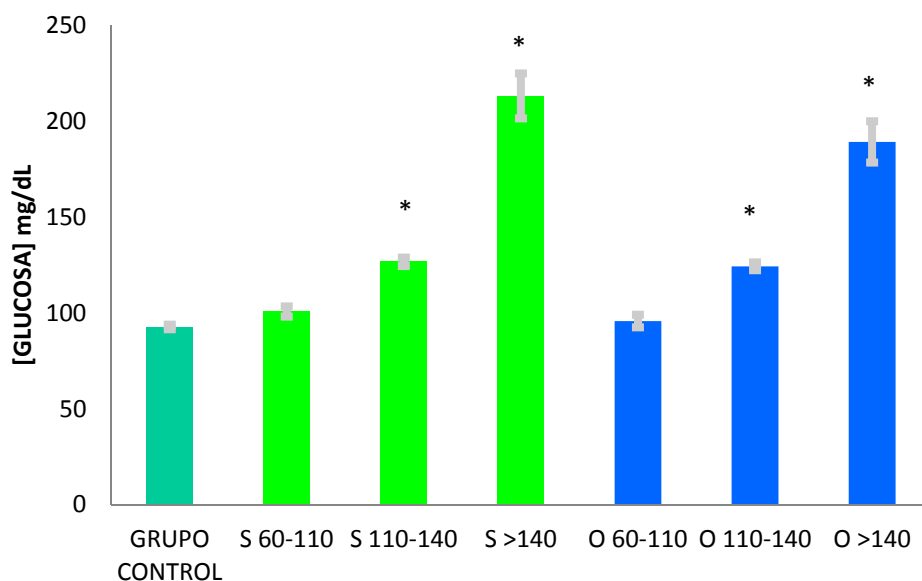


Figura 10.- Cuantificación de los niveles de glucosa. Los valores representan el promedio de concentración plasmática de cada uno de los grupos ($n \geq 8$) comparada con el grupo control. Las barras en verde representan el grupo de **s=sobrepeso** en diferentes rangos de glucosa y las barras en azul al grupo de **o=obesidad** en diferentes rangos de glucosa. La significancia de $*p < 0.05$ fue calculada tras aplicar un análisis estadístico ANOVA seguido de la prueba de Post hoc de Tukey.

7.2 EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ENDOTELIAL

En la figura 11 se observa la concentración plasmática de NITRITOS/NITRATOS expresada en μM , que puede utilizarse como indicador del grado de función endotelial, donde los grupos de sobrepeso y obesidad son estadísticamente significativos en comparación con el grupo control, el grupo de sobrepeso presenta la menor concentración de nitritos/nitratos que el grupo de obesidad, pero aun así no son estadísticamente significativos.

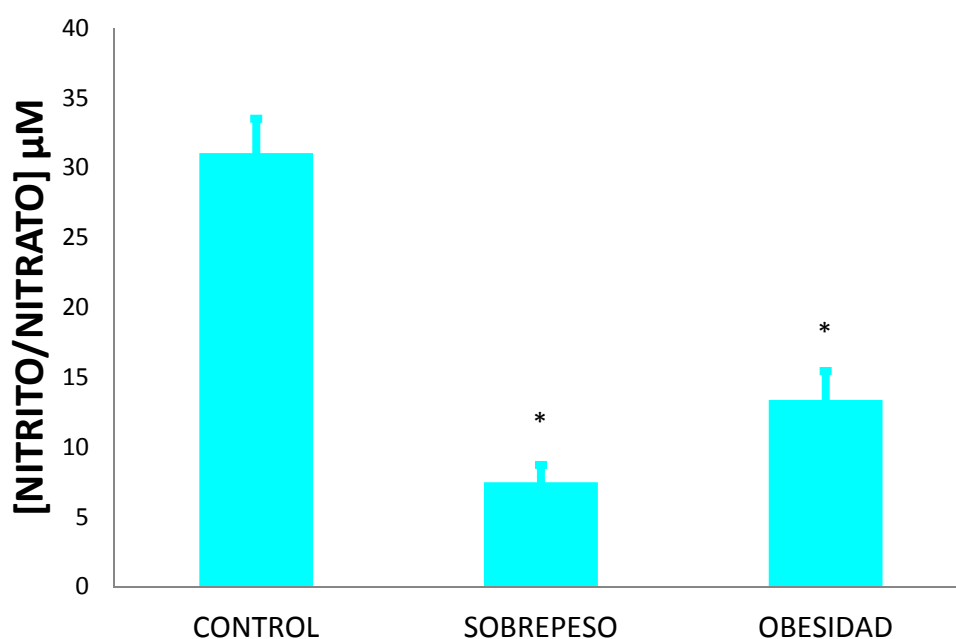


Figura 11.- Cuantificación de los niveles de nitritos/nitratos de cada uno de los grupos, comparados con el grupo control (n=61), sobrepeso (n=77) y obesidad (n=56). Los valores representan el promedio de la concentración plasmática de nitritos/nitratos. La significancia de $*p<0.05$ fue calculada tras aplicar un análisis estadístico ANOVA seguido de la prueba de Post hoc de Tukey.

En la figura 12 se muestra la cuantificación de nitritos/nitratos en los pacientes con sobrepeso, estratificando de acuerdo a las concentraciones de glucosa sanguínea, donde se encontró que la producción de nitritos/nitratos disminuyó en todos los pacientes con sobrepeso independientemente de las concentraciones de glucosa sanguínea que manejen (normoglicemia, pre-diabetes y diabetes), observando diferencia estadísticamente significativa en todos los grupos comparados con el grupo control, pero no diferencia estadísticamente significativa entre ellos.

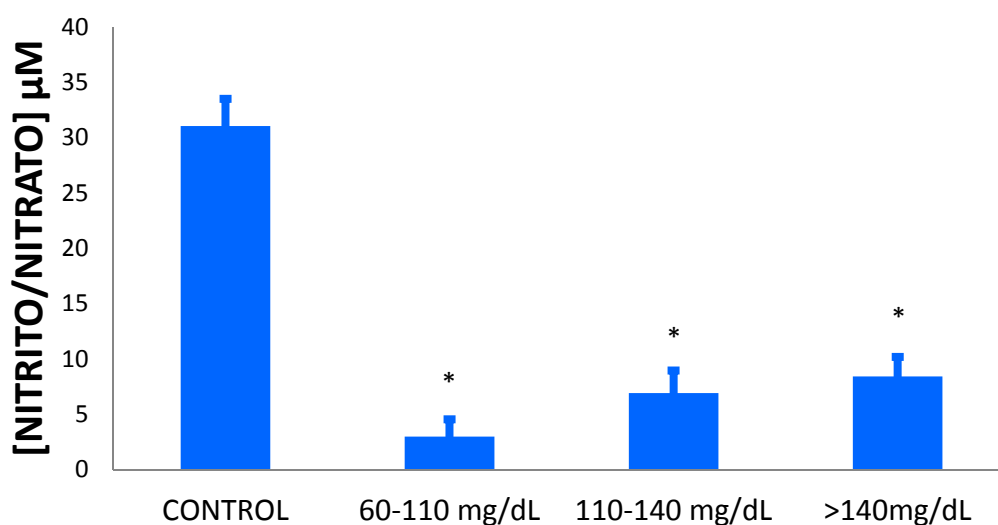


Figura 12.- Cuantificación de nitritos/nitratos en pacientes con sobrepeso distribuidos en diferentes rangos de glucosa y comparado con el grupo control. Los valores expresados representan el promedio de concentración plasmática de nitritos/nitratos. La significancia de $*p<0.05$ fue calculada tras aplicar un análisis estadístico ANADEVA seguido de la prueba de Post hoc de Tukey.

En la figura 13 se muestra la cuantificación de nitritos/nitratos en los pacientes con obesidad, estratificando de acuerdo a las concentraciones de glucosa sanguínea, donde se encontró que la producción de nitritos/nitratos disminuyó en todos los pacientes con obesidad independientemente de las concentraciones de glucosa sanguínea que manejen (normoglicemia, pre-diabetes y diabetes), encontrando diferencia estadísticamente significativa en los grupos de pre-diabetes o diabéticos controlados y diabetes en comparación con el grupo control. Esto sugiere que la obesidad probablemente interfiera con la función de la sintasa de óxido nítrico. No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los grupos que presentan obesidad. Es importante señalar que en los pacientes normoglicémicos que presentan el factor obesidad disminuyó casi la mitad de la concentración de nitritos/nitratos.

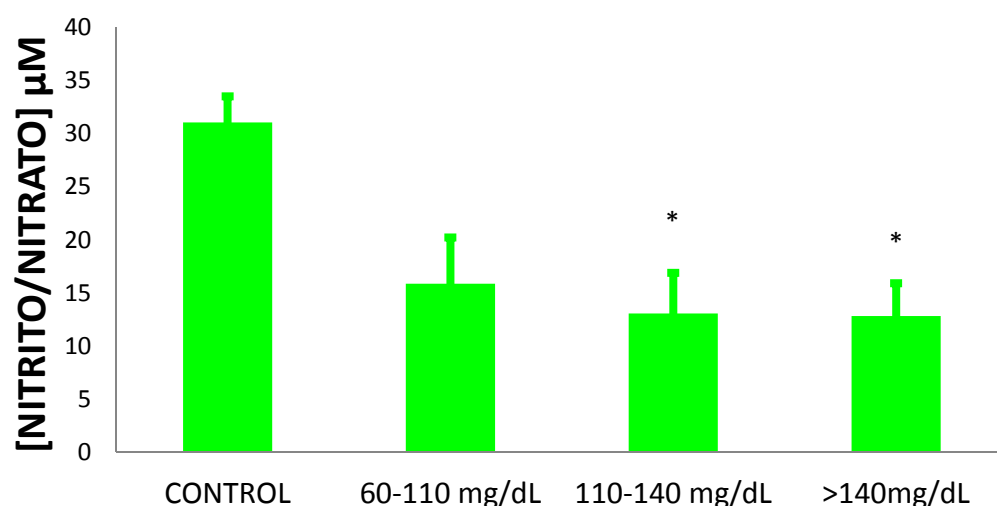


Figura 13.- Cuantificación de nitritos/nitratos en pacientes con obesidad distribuido en diferentes rangos de glucosa y comparados con el grupo control. Los valores representan el promedio de concentración plasmática de nitritos/nitratos. La significancia de $*p < 0.05$ fue calculada tras aplicar un análisis estadístico ANOVA seguido de la prueba de Post hoc de Tukey.

En la figura 14 se observa la concentración plasmática de TBARS expresada en μM en general de cada uno de los grupos, que puede utilizarse para indicar el grado de disfunción endotelial, donde los grupos con sobrepeso y con obesidad presentaron concentraciones mayores de TBARS en comparación con el grupo control, no se observó diferencia estadísticamente significativo pero si una tendencia a aumentar.

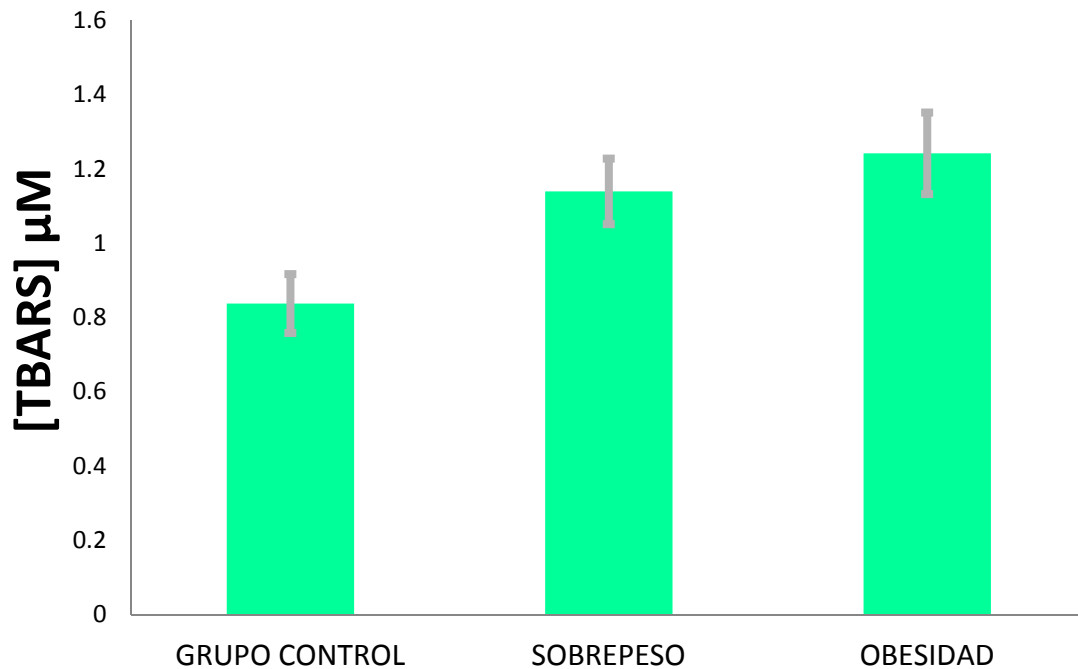


Figura 14.- Cuantificación de los niveles de TBARS en cada uno de los diferentes grupos y comparados con el grupo control. Los valores representan el promedio de la concentración plasmática de TBARS. La significancia de $*p < 0.05$ fue calculada tras aplicar un análisis estadístico ANOVA seguido de la prueba de Post hoc de Tukey.

En la figura 15 se analizó el grupo de sobrepeso categorizando de acuerdo a los niveles de glucosa sanguínea, de tal manera que la producción de TBARS aumento en todos los pacientes con sobrepeso comparados con el grupo control, independientemente de las concentraciones de glucosa sanguínea que manejen, encontrando diferencia estadísticamente significativa en el grupo de pacientes diabéticos comparado con el grupo control.

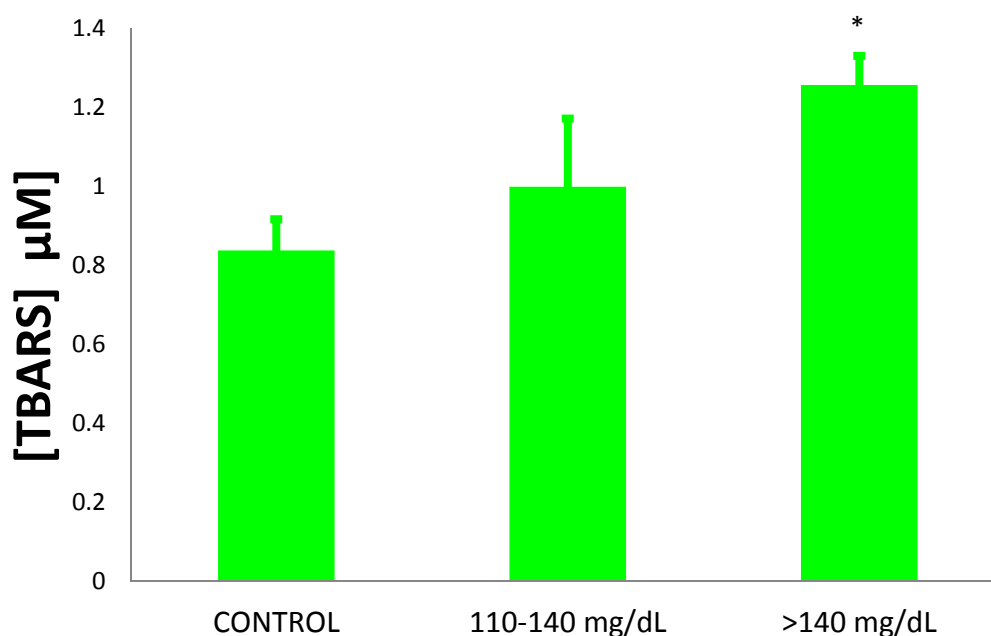


Figura 15.- Cuantificación de TBARS en pacientes con sobrepeso categorizados en diferentes rangos de glucosa comparando con el grupo control. Los valores expresados representan el promedio de concentración plasmática de TBARS. La significancia de * $p < 0.05$ fue calculada tras aplicar un análisis estadístico ANOVA seguido de la prueba de Post hoc de Tukey.

En la figura 16 se muestra la cuantificación de TBARS en el grupo de pacientes con obesidad de acuerdo a las concentraciones de glucosa sanguínea, no se observó diferencia estadísticamente significativa comparados con el grupo control ni con los pacientes del mismo grupo en diferentes rangos de glucosa, pero si se observó una tendencia a aumentar, por lo que podríamos decir que a medida que aumenta la concentración de glucosa plasmática, también aumenta la concentración plasmática de TBARS, suponiendo entonces que los factores hiperglicemia y obesidad juntos provocarían una mayor disfunción endotelial.

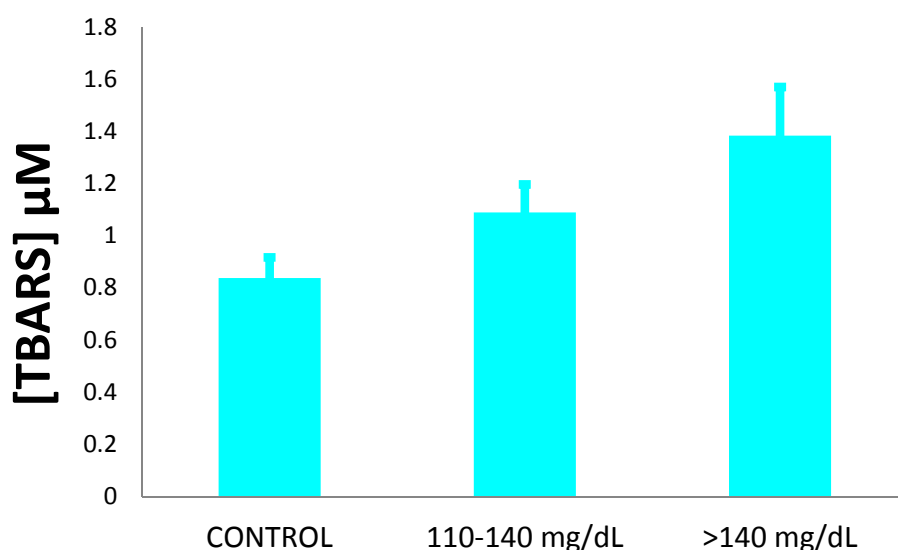


Figura 16.- Cuantificación de TBARS en pacientes con obesidad distribuidos en diferentes rangos de glucosa y comparando con el grupo control. Los valores expresados representan el promedio de concentración plasmática de TBARS. La significancia de $*p<0.05$ fue calculada tras aplicar un análisis estadístico ANOVA seguido de la prueba de Post hoc de Tukey.

7.3 CORRELACIÓN GLUCOSA-NITRITOS/NITRATOS EN PACIENTES CON SOBREPESO

El análisis de los promedios de datos anteriores sugería la relación entre los valores de glucosa y la concentración plasmática de nitritos/nitratos en los pacientes con sobrepeso, por lo que se exploró la correlación entre dichas variables.

En la figura 17 se observó que no hubo correlación significativa entre los valores de la concentración de nitritos/nitratos y la concentración de glucosa en personas con sobrepeso, aunque se observó una frecuencia a presentar valores menores de concentración de nitritos/nitratos asociado a mayores concentraciones de glucosa sanguínea en los pacientes con sobrepeso, datos observados por debajo de la línea (promedio del grupo control).

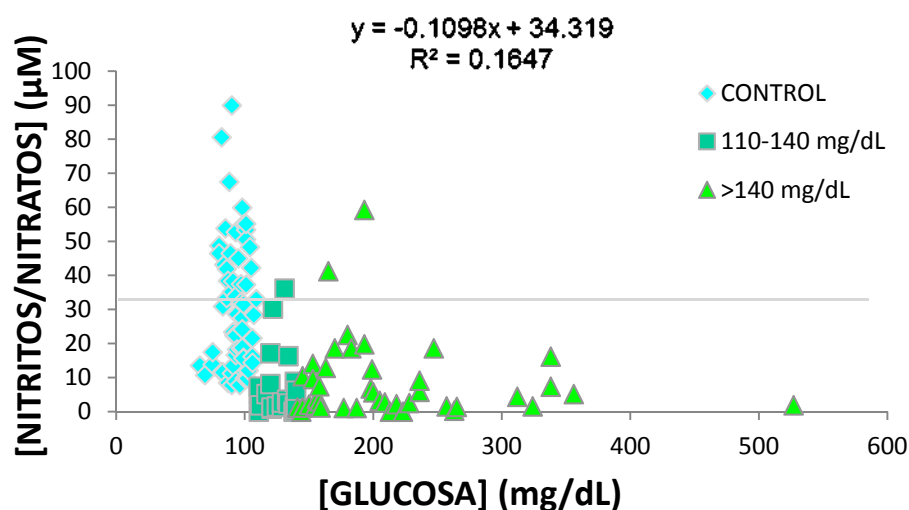


Figura 17. Correlación entre la concentración de nitritos/nitratos y la concentración de glucosa sanguínea en pacientes del Hospital General “Dr. Miguel Silva” (n=137), con sobrepeso (n=77; cuadros y triángulos) y el grupo control (n=60; rombos).

7.4 CORRELACIÓN GLUCOSA-TBARS EN PACIENTES CON SOBREPESO

Los datos anteriores sugirieron una probable relación entre los valores de glucosa y la concentración plasmática de TBARS en los pacientes con sobrepeso, por lo que se exploró la de correlación entre dichas variables.

En la figura 18 se observó que no hubo correlación significativa entre los valores de la concentración de TBARS y la concentración de glucosa en personas con sobrepeso, aunque se observó una frecuencia a presentar valores mayores de concentración de TBARS asociado a mayores concentraciones de glucosa sanguínea en los pacientes con sobrepeso, datos observados sobre la línea (promedio del grupo control).

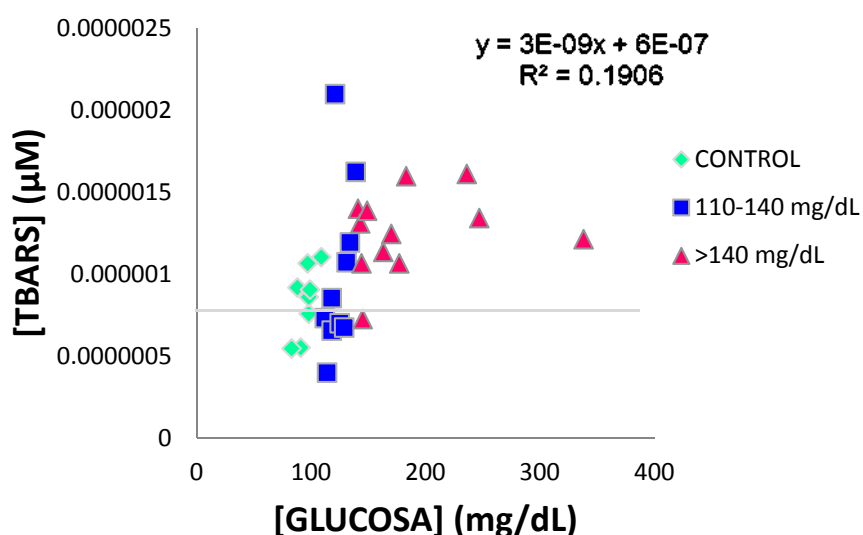


Figura 18. Correlación entre la concentración de TBARS y la concentración de glucosa en pacientes del Hospital General “Dr. Miguel Silva” (n=30), con sobrepeso (n=22; cuadros y triángulos) y el grupo control (n=8; rombos).

7.5 CORRELACIÓN GLUCOSA-NITRITOS/NITRATOS EN PACIENTES CON OBESIDAD

El análisis de los promedios de datos anteriores sugería la relación entre los valores de glucosa y la concentración plasmática de nitritos/nitratos en los pacientes con obesidad, por lo que se exploró la correlación entre dichas variables.

En la figura 19 se observó que no hubo correlación significativa entre los valores de la concentración de nitritos/nitratos y la concentración de glucosa en personas con obesidad, aunque se observó una frecuencia a presentar valores menores de concentración de nitritos/nitratos asociado a mayores concentraciones de glucosa sanguínea en los pacientes con obesidad, datos observados por debajo de la línea (promedio del grupo control).

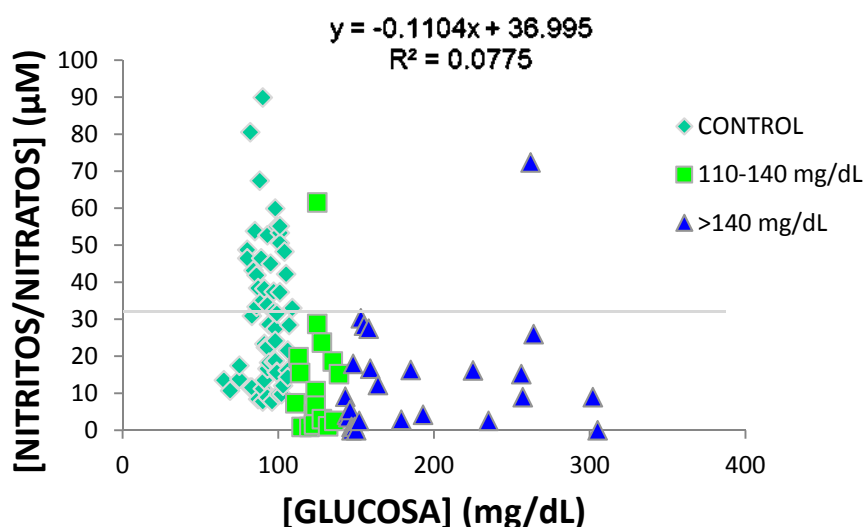


Figura 19.- Correlación entre la concentración de nitritos/nitratos y la concentración de glucosa sanguínea en pacientes del Hospital General “Dr. Miguel Silva” (n=116), con obesidad (n=56; cuadros y triángulos) y el grupo control (n=60; rombos).

7.6 CORRELACIÓN GLUCOSA-TBARS EN PACIENTES CON OBESIDAD

Los datos anteriores sugirieron una probable relación entre los valores de glucosa y la concentración plasmática de TBARS en los pacientes con obesidad, por lo que se exploró la de correlación entre dichas variables.

En la figura 20 se observó que no hubo correlación significativa entre los valores de la concentración de TBARS y la concentración de glucosa en personas con obesidad, aunque se observó una frecuencia a presentar valores mayores de concentración de TBARS asociado a mayores concentraciones de glucosa sanguínea en los pacientes con obesidad, datos observados sobre la línea (promedio del grupo control).

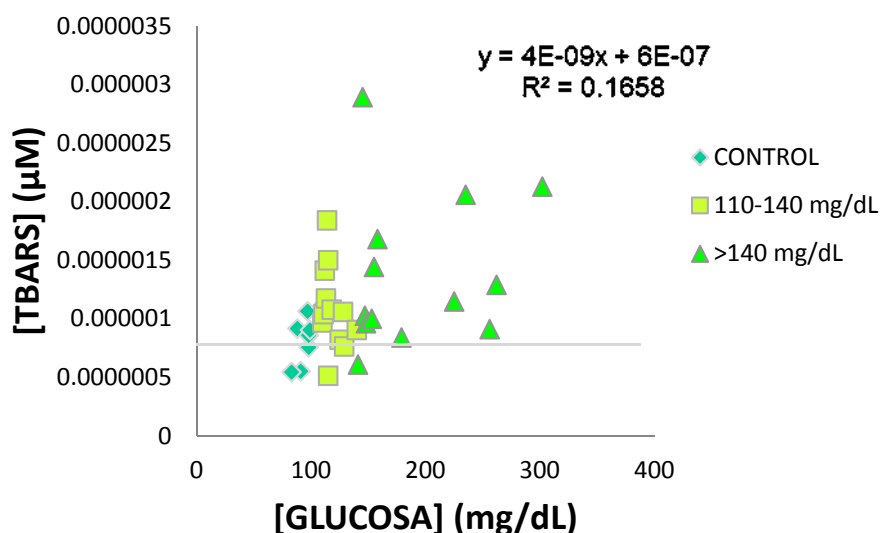


Figura 20. Correlación entre la concentración de TBARS y la concentración de glucosa en pacientes del Hospital General “Dr. Miguel Silva” (n=33), con obesidad (n=25; cuadros y triángulos) y el grupo control (n=8; rombos).

VIII. DISCUSIÓN

Los resultados del presente trabajo son congruentes con disfunción endotelial en estados hiperglicémicos sustentado por la probable relación inversa entre la hiperglicemia y la cuantificación de nitritos, y la relación directa entre TBARS y la concentración de glucosa.

En los pacientes con la comorbilidad hiperglicemia – obesidad o hiperglicemia – sobrepeso, la disfunción endotelial fue más evidente mostrado por los niveles de nitritos y de TBARS.

Como ya se mencionó anteriormente la producción de NO se realiza por la NOS, y por lo observado en un estudio previo es de suponer que cualquier evento que interfiera con la función de NOS se refleja en la producción de NO, en el caso de un ambiente hiperglicémico, un factor importante es la formación de AGEs²⁸.

La glicosilación de la NOS inducida por la hiperglicemia podría conducir a una disminución en la capacidad de producción de óxido nítrico así como a un incremento en la producción de radicales libres y esto a su vez incrementar el estrés oxidativo.

Los resultados obtenidos confirman que el aumento de glucosa conlleva a un incremento de ERO que podría asociarse a un incremento de estrés oxidativo. Y en el caso de la co-morbilidad hiperglicemia -sobrepeso e hiperglicemia – obesidad existe factores adicionales para aumentar la producción de radicales libres, como algunos malos hábitos higiénicos dietéticos.

En presencia de obesidad, el tejido adiposo segrega cantidades mucho más elevadas de adipocinas, en concreto de TNF- α , interleucina 6 (IL-6) y resistina, que hacen que dicho tejido se vuelva resistente a la acción de la insulina; de todas estas sustancias, una de las más importantes es el TNF- α , que se cree que produce resistencia a la insulina al inducir un defecto en la capacidad de fosforilación de residuos de tirosina en el primer sustrato del receptor de insulina (IRS-1)²⁹.

En el paciente obeso primero aparece resistencia a la acción de la insulina en el tejido adiposo y luego en el resto de tejidos, por lo que se produce un cuadro de intolerancia a la glucosa. Para intentar normalizar la glucemia, el páncreas segrega más insulina, sin embargo no consigue su normalización y persiste la intolerancia a la glucosa, que puede derivar a largo plazo en diabetes tipo 2 si se produce disfunción de las células β del páncreas, por su hiperactividad para intentar mantener normales los niveles de glucosa y por el efecto lipotóxico de los ácidos grasos libres (AGL), que conduce a la acumulación de cadenas largas de acil-CoA en las células beta y a la muerte de las mismas por apoptosis²⁹.

La elevación crónica de los niveles plasmáticos de glucosa e insulina, junto con el de adipocinas, tiene diferentes efectos adversos, entre los que se encuentran: a) aumento del estrés oxidativo, b) disfunción endotelial, c) aumento de la tensión arterial, y d) alteraciones en el metabolismo lipoproteico²⁹.

De acuerdo con nuestros resultados obtenidos los indicadores de NO (nitritos/nitratos) disminuyeron, ya que en ambas situaciones de obesidad y sobrepeso hay sobreproducción de radicales libres de oxígeno lo que afecta la biodisponibilidad del NO, pero también encontramos que el factor del sobrepeso cursa con mayor disfunción endotelial ya que se obtuvo menor concentración de nitritos/nitratos en este grupo que en el grupo de pacientes con obesidad, probablemente debido a que los pacientes con sobrepeso tenían mayores concentraciones de glucosa en sangre que los pacientes con obesidad.

Algo importante de resaltar obtenido en nuestros resultados, fue que en el grupo de pacientes con sobrepeso y categorizado de acuerdo con los rangos de glucosa, a medida que aumentaba la concentración de glucosa aumentaba la concentración de nitritos/nitratos, lo que nos indica que se está produciendo más NO pero no se sabe cómo se esté comportando estaríamos hablando probablemente de un mecanismo compensador de acuerdo a la mayor producción de glucosa, probablemente la SON este aumentada por el ambiente hiperglicémico, pero los productos de la interacción SON – glucosa no sean estables en el paciente con sobrepeso y sea por eso que se esté produciendo mayor concentración de nitritos/nitratos. Esta propuesta requiere de más estudio para poder confirmarse.

IX. CONCLUSIONES

La disfunción endotelial exacerbada se presentó en pacientes con las comorbilidades hiperglicemia – sobrepeso y/o obesidad, del Hospital General “Dr. Miguel Silva”

El sedentarismo se presentó como un factor de riesgo adicional para la disfunción endotelial en la población estudiada.

Otro factor de riesgo observado en la mayoría de los pacientes fue una mala alimentación, ya que por diversas causas, tanto por lo económico, el trabajo o el tiempo, la alimentación que más frecuentan es la comida rápida o comida chatarra.

La glucosa sanguínea alta probablemente influya en la actividad de NOS, más que la alteración metabólico nutricional, este efecto fue más evidente en los pacientes con sobrepeso.

El estrés oxidativo (TBARS) aumento en pacientes con la morbilidad asociada hiperglicemia – sobrepeso y/o obesidad.

X. RECOMENDACIONES

Para regular el estrés oxidativo (TBARS), nuestros resultados sugieren que los niveles de glucosa sanguínea deben estar normales o en cifras de control que podrían ser menos de 140 mg/dL, para corroborar este fenómeno oxidativo, se podrían determinar otros marcadores de estrés oxidativo como radical anión superóxido, isoprostanos, NF kappa β , ROOH, GSH, CAT, SOD, PP, FRAP.

Se ha sugerido el uso de antioxidantes en pacientes hiperglicemicos, nuestros resultados indican que es una estrategia apropiada, por lo que se podría valorar el estrés oxidativo en pacientes hiperglicemicos que reciban un tratamiento antioxidante con diferentes sustancias como vitaminas hidrosolubles como la vitamina C y vitaminas liposolubles como la E, la A, y ácido lipoico.

XI. REFERENCIAS

1. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Diabetes mellitus la urgencia de reforzar la respuesta en políticas públicas para su prevención y control. México: ENSANUT 2012.
2. Diabetes hands foundation. Diabetes mellitus: clasificación y diagnostico según la ADA. Diabetes care. 2010;33 supl1:62-69.
3. Grupo saned. Diabetes tipo 2. Aula de la farmacia;1-27.
4. Organización Mundial de la Salud. Diabetes. OMS; 2013. Notas descriptivas:312.
5. American Diabetes Association. Síntomas de la diabetes. EE UU: ADA; 2013. Información básica de la diabetes. Disponible en: <http://www.diabetes.org/es/informacion-basica-de-la-diabetes/sintomas-de-la-diabetes/>
6. Ciprian-Thorne E, Quintanilla A. Diabetes mellitus tipo 2 y resistencia a la insulina. Rev Med Hered. 2010;21:160-170.
7. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Obesidad en adultos: los retos de la cuesta abajo. México: ENSANUT 2012.
8. Organización Mundial de la Salud. Obesidad y sobrepeso. OMS; 2014. Notas descriptivas:311.
9. Galvão R, Lane PF, Flexa RF, Aron AS, Christofalo DMJ, Kohlmann O. Efectos de Diferentes Grados de Sensibilidad a la Insulina en la Función Endotelial de Pacientes Obesos. Arq Bras Cardiol. 2012;98(1):45-51.
10. Laguna S, Principe RM, Botella S, Fruhbeck G, Escalada J, Salvador J. El índice de masa corporal y la circunferencia abdominal infraestiman el diagnóstico de obesidad en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. Av Diabetol. 2010;26:173-177.
11. Lourdes Carrillo Fernández: Médico de familia. Tenerife. Diabetes y Obesidad.[Diabetes Practica].[Revista en línea]2011[Consultado 18 de Julio 2013];Suplemento no.6:[pp 39-41]. Disponible en: www.diabetespractica.com/pdf/suplementos/2011-suplemento6/11_carrillo.pdf
12. Costa GJE. La tormentosa relación entre las grasas y la diabetes tipo 2. Rev Feb Arg Cardiol. 2010;39(2):81-91.

13. Olivares RJA, Arellano PA. Bases moleculares de las acciones de la insulina. REB. 2008;27(1):9-18.
14. Cruz HJ, Licea PME, Hernandez GP, Yanes QM, Salvato DA. Disfunción endotelial y diabetes mellitus. RCE. 2012;23(2):166-185.
15. Duarte MJ, Espinosa LRF, Diaz MS, Sanchez RG, Lee Eng CVE, Mijangos CJ, et al. Óxido nítrico: metabolismo e implicaciones clínicas. Med Int Mex. 2008;24(6):397-406.
16. Acosta AG, Añez VJ, Andara CV, Bermúdez PV, Bermúdez AF. Mecanismos moleculares de la disfunción endotelial: de la síntesis a la acción del óxido nítrico. Archivos venezolanos de Farmacología y Terapéutica. Jul 2006;20,25(2):54-59.
17. Cuellar MP, Solís MMO, Sánchez LMC, García NRM, Arias NS. El óxido nítrico: una molécula biológica llena de contrastes. Acta universitaria. 2010 Dic 13;20(3): 24-33.
18. Gonçalves DR, Negrão CE, Krieger MH. Óxido nítrico y sistema cardiovascular: Activación celular, reactivación vascular y variante genética. Arq Bras Cardiol. 2011;96(1):68-75.
19. Cohen SEN. La glicosilación no enzimática: una vía común en la diabetes y el envejecimiento. Med Cutallber Lat Am. 2011;39(6):243-246.
20. Arnol V. Efectos de los productos de glicosilacion avanzada (AGEs) y la metformina sobre el hueso: estudios in vitro e in vivo [tesis doctoral]. La Plata Buenos Aires Argentina: Universidad Nacional de la Plata; Facultad de Ciencias Exactas; 2012.
21. Olmos P, Araya PA, González C, Laso P, Irribarra V, Rubio L. Fisiopatología de la retinopatía y nefropatía diabéticas. Rev Med Chile. 2009;137:1375-1384.
22. Aponte RL, Ramirez ZR, Hernández GS, Somonte ZD. Los procesos de glucosilación no enzimática. AMC. 2009;13(6):1-15.
23. Cruz HJ, Licea PME. Glicosilación no enzimática y complicaciones crónicas de la diabetes mellitus. Revista Cubana de Endocrinología. 2010;21(2):223-255.
24. Cruz HJ, Licea PME, Hernández GP, Marcel EAA, Yanes QM. Estrés oxidativo y diabetes mellitus. Rev Mex PatolcClin. 2011;58(1):4-15.
25. Pérez GRV, Albarrán BS, Manzo AS, Saavedra MA. Estrés oxidativo y las complicaciones asociadas a la diabetes. Ciencia Nicolaita. 2009 (51):133-140.

26. Luna P, Pastelín G, Martínez M. La diabetes mellitus y la cardioprotección. *Revista Mexicana de Anestesiología*. 2011;34(2):111-125.
27. Ceriello A. La "memoria metabólica" inducida por hiperglicemia: el nuevo reto en la prevención de la enfermedad cardiovascular en la diabetes. *Rev Esp Cardiol Supl*. 2008;8:12C-18C.
28. Cruz RJ. Actividad de la sintasa de NO en pacientes con hiperglicemia y dislipidemia: probable participación de productos terminales de glicosilación avanzada (AGEs) [tesis]. Morelia Michoacán: Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo; Laboratorio de Farmacología Cardiovascular y Laboratorio de Toxicología de la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas "Dr. Ignacio Chávez". 2012.
29. Rodríguez RE, Perea JM, López SAM, Ortega RM. Obesidad, resistencia a la insulina y aumento de los niveles de adipoquinas: importancia de la dieta y el ejercicio físico. *Nutr Hosp*. 2009;24(4):415-421.

XII. ANEXOS

ANEXO I Hoja de captura de información

CODIGO _____ EXPEDIENTE _____ FECHA _____
NOMBRE: _____
OCUPACIÓN: _____ ESTADO CIVIL _____
EDAD: _____ AÑOS _____ SEXO: M ☐ F ☐
PESO: _____ KG T.A _____ CINTURA _____
TALLA: _____ IMC _____ FC _____
PATOLOGIAS PRESENTES:
DM: SI ☐ NO ☐ TIEMPO DE Dx: _____
EN CASO DE SI Y DE SABERLO, ¿DE CUANTO HAN SIDO SUS NIVELES? _____
HTA: SI ☐ NO ☐ TIEMPO DE Dx: _____
EN CASO DE SI Y DE SABERLO, ¿DE CUANTO HAN SIDO SUS NIVELES? _____
ENFERMEDADES CONCOMITANTES: SI ☐ NO ☐ CUAL: _____

TOMA ALGUN MEDICAMENTO: ☐ SI ☐ NO CUAL: _____

CIRUGIAS: ☐ SI ☐ NO CUAL: _____
FAMILIARES: OBESOS ☐ SOBREPESO ☐ DIABÉTICOS ☐ HIPERTENSOS ☐
EN CASO DE SER MUJER, ¿SE ENCUENTRA EMBARAZADA? SI ☐ NO ☐
HÁBITOS HIGIÉNICOS DIETÉTICOS:
SEDENTARISMO ☐ DIETAS POBRES EN FIBRA ☐ DIETA RICA EN
LÍPIDOS ☐
TOXICOMANIAS: TABAQUISMO ☐ ALCOHOLISMO ☐
CUANTIFICACION DE:
OXIDO NITRICO _____ RADICALES LIBRES _____
GLUCOSA _____ TRIGLICERIDOS _____
COLESTEROL _____

ANEXO II Preparación de reactivos

Reactivos a utilizar

CCl_3COOH 7% Disolver en agua destilada

Sulfanilamida 1% Disolver en ácido acético 5% o ácido clorhídrico 5%

N-naftil-etilendiamina 0.1% Disolver en ácido acético 5% o ácido clorhídrico 5%

NaNO_2 (1×10^{-4} M) Disolver en agua destilada (ESTANDAR)

Solución acida: CCl_3COOH 15% + TBA 0.375% + HCl 0.25N

Desproteinización de suero

A 1000 μl del suero agregar 500 μl de CCl_3COOH , centrifugar a 2500 rpm durante 9 minutos y separar el sobrenadante.