

Estrés oxidativo y diabetes mellitus

Palabras clave: Diabetes mellitus, estrés oxidativo, radicales libres.

Key words: Diabetes mellitus, oxidative stress, free radicals.

Recibido: 01/11/2010
Aceptado: 06/01/2011

Este artículo puede ser consultado en versión completa en: <http://www.medigraphic.com/patologiaclinica>

Jeddú Cruz Hernández,* Manuel Emiliano Licea Puig,** Pilar Hernández García,*** Enrique A Abraham Marcel,**** Marelis Yanes Quesada**

* Hospital Ginecoobstétrico Docente «América Arias». Cuba.

** Instituto Nacional de Endocrinología.

*** Hospital Pediátrico Docente «Marfán».

**** Laboratorio Clínico. MINSAP.

Correspondencia:

Dr. Jeddú Cruz Hernández

Calle 27 No. 856 entre 2 y 4, El Vedado,

La Habana. CP: 10400, Cuba.

Tel: 832-13-23

E-mail: celsocruz@infomed.sld.cu

4

Resumen

Se realizó una revisión acerca de cómo influye el estrés oxidativo en la aparición de las complicaciones crónicas en el sujeto que padece una diabetes mellitus. En la diabetes se produce aumento de la producción de radicales libres del oxígeno y del nitrógeno, fundamentalmente, de lo cual es responsable, en esencia, la hiperglucemia crónica que manifiestan los individuos afectados por esta enfermedad metabólica que, sobre todo, no tienen un control metabólico óptimo, y esto se acompaña además de la disminución de las defensas antioxidantes naturales. Así, las especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno afectan a diferentes tejidos y órganos del organismo del diabético y contribuyen a la aparición de la retinopatía, la nefropatía y la neuropatía diabéticas y están implicadas además en la aparición de malformaciones en las gestantes diabéticas pregestacionales. El mejor tratamiento para evitar el aumento del estrés oxidativo en los diabéticos y, en consecuencia, la aparición de complicaciones crónicas, sería el alcance de un control metabólico óptimo, aunque pueden usarse también como terapia algunas sustancias antioxidantes naturales y artificiales.

Abstract

A review on how oxidative stress influences the onset of complications in the chronic patient suffering from diabetes mellitus was carried out. In diabetes there is an increased production of free radicals for oxygen and nitrogen, mainly, in essence which, chronic hyperglycemia is responsible for in individuals affected by metabolic disease, especially, those who have no optimal metabolic control, and this is also accompanied by reduced natural antioxidant defenses. Thus, reactive oxygen and nitrogen species affect different tissues and organs of the body in diabetic patients and contribute to the development of retinopathy, nephropathy and diabetic neuropathy. They are also involved in the occurrence of malformations in diabetic pregnant women. The best treatment to avoid the increased oxidative stress in diabetics and, consequently, the occurrence of chronic complications, would be the scope of optimal metabolic control, but some natural and artificial antioxidants can also be used as a therapy.

Introducción

Con el desarrollo actual de la ciencia y la tecnología, la biología molecular ha adquirido un papel primordial en la búsqueda de respuesta a numerosos problemas científicos y médicos. Los descubrimientos alcanzados en este campo no sólo han facilitado la comprensión de la patogenia de numerosas enfermedades, sino también han contribuido a mejorar o complementar las medidas terapéuticas utilizadas en éstas. No es de extrañar, por tanto, que los términos estrés oxidativo, radicales libres (RL) y antioxidantes, propios de esta especialidad, constituyan actualmente tema frecuente y referencia obligada en artículos científicos que tratan de materias tan disímiles como envejecimiento, inflamación, choque circulatorio y enfermedades crónicas, entre las que se pueden citar la aterosclerosis y la diabetes mellitus (DM), entre otras.

Radicales libres

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 reaccional 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).¹⁻³

Estas especies se producen de manera fisiológica como parte de las reacciones orgánicas de oxidación-reducción. Así, la producción controlada de RL permite la realización de varios procesos fisiológicos como la fertilización del óvulo por el espermatozoide, la activación de genes y enzimas

de la membrana celular, la síntesis de colágeno, prostaglandinas y hormonas tiroideas, y la fagocitosis y lisis de bacteria, entre otros.¹⁻³

Los RL del oxígeno (O_2) tienen un bajo peso molecular y se forman como consecuencia de reducciones univalentes subsecuentes del oxígeno; presentan una vida media muy corta y, por su naturaleza birradicálica, 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 del O_2 , 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 del O_2 y estas últimas sustancias se denominan, en su conjunto, especies reactivas del oxígeno (EROs).¹⁻³

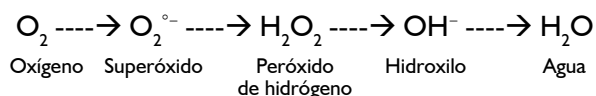
Tipos de especies reactivas del oxígeno

La primera EROs que se forma a partir del O_2 es el radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), el cual es un RL, por lo que puede ser directamente tóxico. Presenta una limitada reactividad con la mayoría de las moléculas biológicas, sobre todo, en medio acuoso, por lo que algunos han puesto en duda su toxicidad *per se*. No obstante, como puede difundir a distancias relativamente grandes y encontrar condiciones propicias para su acción (medio hidrofóbico como membranas celulares), así como por su capacidad de generar otras EROs más potentes, se considera un agente tóxico potencial.¹⁻⁵

La reducción univalente del $O_2^{\cdot-}$ genera peróxido de hidrógeno (H_2O_2), compuesto que es una EROs, pero no un RL. A partir del H_2O_2 , y también del radical $O_2^{\cdot-}$, puede generarse con mucha facilidad el potente agente reactivo radical hidroxilo (OH^{\cdot}), el cual se forma por la reacción de Haber Weiss, en la que ocurre la reducción y oxidación de trazas de metal en presencia de estos compuestos. No existen sistemas enzimáticos que eliminen las

cantidades en exceso del radical OH^- , lo que lo hace aún más peligroso.¹⁻⁵

A continuación, un esquema en el que aparece representada la cadena de reacciones que pueden ocurrir a partir del O_2 :



Síntesis de radicales libres

Los radicales libres (RL) se generan a nivel intracelular y extracelular y provienen de fuentes enzimáticas y no enzimáticas.^{1,3,6-8}

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 monoaminoxidasa 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 .

No enzimáticas:

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

De manera anormal, la formación de RL puede verse incrementada en numerosas situaciones patológicas ante la acción de estimulantes de ésta (por ejemplo, bacterias opsonizadas, virus, inmunoglobulinas, péptidos quimiotácticos) y ante la

exposición a varios agentes deletéreos (por ejemplo, radiaciones ionizantes, ozono, bióxido de nitrógeno, dióxido sulfúrico, estreptozotocina, doxorubicina, adriamicina, smog, lluvia ácida, pesticidas, varios compuestos radiactivos y humo de cigarrillo).¹⁻³

El incremento anormal de los RL puede provocar alteraciones en los componentes celulares y dañar su función, apareciendo entonces ante esto diferentes respuestas celulares patológicas, las cuales dependerán del tipo y cantidad de RL implicados, de la composición bioquímica de las células y, de manera especial, de la capacidad de éstas para contrarrestar la acción de estos elementos agresores, lo cual ocurre a través de variados mecanismos, que en conjunto se conocen como el sistema de defensa antioxidante. Un antioxidante sería aquella sustancia que no obstante estar presente en bajas concentraciones respecto de las de un sustrato oxidable (biomolécula), retarda o previene la oxidación de éste. El antioxidante al interactuar con el RL cede un electrón, se oxida y se transforma en un RL débil no tóxico; es decir, los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan a los RL; al reaccionar interactúan más rápidamente con éstos que las moléculas de determinados microambientes como membrana citoplasmática, citosol, núcleo o líquido extracelular. Con su acción que realizan tanto en medios hidrofílicos como hidrofóbicos, sacrifican su propia integridad molecular con el objetivo de mantener el equilibrio prooxidante/antioxidante a favor de estos últimos.^{1-3,9-12}

Los sistemas antioxidantes han sido clasificados de diferentes maneras, siendo una de las clasificaciones más usadas la que los divide de acuerdo a su estructura química y función biológica en enzimáticos y no enzimáticos.^{3,13,14}

I. Sistemas enzimáticos.

— Enzimas vinculadas directamente:

- Superóxido dismutasa (SOD): Metaloenzima que tiene una amplia distribución en el organismo humano. Existen varias

clases, las cuales tienen como cofactores diferentes átomos metálicos como Zn, Cu, Fe, Mn o Ni. Se localiza dentro de la célula, específicamente, en el citosol y el espacio intermembranoso mitocondrial. Cataliza la reacción de destrucción del anión superóxido, mediante la transformación de éste en peróxido de hidrógeno (dismutación del O_2^-), el cual puede ser destruido a su vez por la actividad de la catalasa o de la glutatión peroxidasa. Su presencia es imprescindible en todos los organismos aerobios.

- Catalasa (CAT): Enzima tetramérica, también con amplia distribución en el organismo. Su presencia es abundante en hígado y riñón, pero escasa en tejido conectivo y epitelios, y prácticamente nula en tejido nervioso. De localización intracelular (mitocondrias, peroxisomas, citosol), tiene dos funciones fundamentales: catalítica y peroxidativa. Reduce el H_2O_2 a agua y O_2 molecular.
 - Glutatión peroxidasa (GPX): Enzima seleno-dependiente de localización mitocondrial, citosólica y lisosómica, que cataliza la reducción del H_2O_2 a radical hidropéroxido en presencia de glutatión reducido y selenio. El ciclo redox del glutatión es la mayor fuente de protección contra bajos niveles de estrés oxidativo. La actividad de esta enzima contribuye a proteger a los lípidos de la membrana celular de la peroxidación.
- Enzimas no vinculadas directamente:
- Sistemas de transporte y de renovación de lípidos y proteínas: Las proteasas celulares son las encargadas de la eliminación de las proteínas alteradas oxidativamente, que son, a su vez, fuente generadora de más RL; entre estas enzimas se encuentran la proteasa multicatalítica y la ubiquitina.
 - Sistemas de reparación de ADN, incluidos entre los llamados antioxidantes terciarios.
 - Sistemas regeneradores de NADPH.

- Glutatión reductasa: Gracias a ella se regenera glutatión reducido una vez que éste se ha oxidado.
- Transferasas, quinonas reductasas, metionina sulfoóxido reductasa y hemoxigenasa, que pueden prevenir la formación de RL mediante el ciclado de electrones.

2. Sistemas proteicos no enzimáticos.

Estos sistemas disminuyen las concentraciones de trazas de metal necesarias para la reacción de Haber-Weiss:

- Transportadores de metales como la transferrina y la celuroplasmina.
- Quelantes de hierro como la deferoxamina.

3. Sistemas no enzimáticos no proteicos.

- Glutatión reducido (GSH): Perteneciente al grupo de los llamados rastillos de radicales, especies químicas cuya posibilidad antioxidante reside en su capacidad para destruir directamente los RL. Reduce el H_2O_2 a agua, en presencia de la GPX, transformándose en glutatión oxidado (GSSG). El GSH es un tiol, cuya gran capacidad neutralizadora de RL radica en el grupo sulfhídrico de la cisteína. El GSSG es reducido enzimáticamente a GSH por la glutatión reductasa NADPH, que se oxida a NADP.
- Vitamina E (alfa tocoferol): Constituye probablemente el antioxidante lipofílico más eficiente. Reduce la formación de radicales lipídicos (interrumpe las cadenas de peroxidación de los lípidos insaturados) transformándose en radical tocoferol, que vuelve a su forma reducida por la vitamina C. Su presencia es esencial para la protección de las membranas celulares.
- Vitamina C (ácido ascórbico): Es uno de los más potentes antioxidantes naturales. Actúa principalmente en medio acuoso y reduce al radical tocoferol.

- Vitamina A (beta caroteno): Al igual que la vitamina E, pertenece al grupo de los antioxidantes lipofílicos. Su efecto antioxidante se debe a que impide la interacción entre los dobles enlaces conjugados de la cadena insaturada de los lípidos y el RL. Los RL inactivados eficientemente por los carotenoides son el radical $O_2^{\cdot-}$ y los radicales peroxilos.
- Manitol.
- Metales como el Zn y el Cu, que actúan como cofactores enzimáticos.
- Otros: Selenio, bilirrubina, entre otros.

4. Activación de genes involucrados en la defensa y la reparación celular.

- Genes tempranos.
- Genes que codifican para las proteínas del choque térmico: Algunas de éstas pertenecen a la familia de las chaperonas, proteínas que interactúan con otras estabilizando la estructura tridimensional de las últimas.

8

Estas defensas antioxidantes, en ocasiones, no son capaces de contrarrestar las concentraciones de RL, ya sea por un aumento exagerado en la producción de estos últimos o por una disminución de las primeras, lo cual generará el estado metabólico de estrés oxidativo (EO), que en última instancia puede llevar a la muerte celular. Este estrés oxidativo puede ser amplificado y propagado por un ciclo autocatalítico de estrés metabólico, y producir daño tisular y muerte celular, lo que conduce a su vez a un aumento simultáneo en la producción de RL y compromete los mecanismos de remoción de éstos, con la consiguiente exacerbación de los procesos patológicos.

Medición del estrés oxidativo

Se ha tratado de medir el estrés oxidativo de diferentes formas y algunas de las más importantes son: la medición de potenciales de pares redox celulares, como tioles, la detección específica e inespecífica de RL y productos derivados de la oxidación de

macromoléculas y la determinación de sustancias antioxidantes, tanto enzimáticas como no enzimáticas. No obstante, es difícil cuantificar la magnitud del estrés oxidativo (EO) que surge ante diferentes situaciones patológicas, dado que la medición puntual de los valores de RL es muy compleja y el estado redox a nivel subcelular, celular, tisular y orgánico no depende sólo de un parámetro aislado; así, en la actualidad no hay métodos estandarizados para medir el estado de estrés oxidativo en humanos.¹⁴

Existe un método directo de medición, usando agentes secuestradores de espines y realizando las mediciones a través de la resonancia espectroscópica.^{15,16} Por lo común el estrés oxidativo se mide de manera indirecta a través de la determinación de los productos de oxidación de las proteínas y, fundamentalmente, de los lípidos, lo cual refleja el grado de daño celular. Para esto último se utiliza frecuentemente la capacidad de reacción del ácido tiobarbitúrico con los lipoperóxidos, lo que ayuda a detectar su presencia: el malondialdehído (MDA) reacciona con este ácido y forma un producto coloreado.¹⁷ También se pueden medir con este fin otros parámetros de oxidación lipídica como peróxidos lipídicos y dienos conjugados. Existen otros métodos indirectos de detección de RL a través de la determinación de la reducción del citocromo C y de la reducción del *nitroblue tetrazolium*¹⁸ y por quimioluminiscencia.¹⁹ Actualmente, las mediciones de las concentraciones de enzimas antioxidantes y otros compuestos con las mismas funciones (GHS, NADPH, coenzima Q, y vitaminas A, C y E), que se realizan en algunos de los casos por medio de la técnica de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), son utilizadas para la evaluación del estrés oxidativo.^{1,7,14}

Papel de la hiperglucemia en la inducción del estrés oxidativo

Aunque existe una fuerte evidencia experimental que indica que el estrés oxidativo puede determinar

el comienzo y la progresión de complicaciones tardías de la diabetes mellitus, aún hay controversia acerca de si el incremento de este fenómeno es meramente asociativo más que causal en el caso de esta enfermedad metabólica; no obstante, se ha demostrado que existe un aumento de la producción de EROs y una disminución de las defensas antioxidantes en los sujetos diabéticos.²⁰⁻²³

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 glucación de proteínas, la activación de la vía de los polioles y la disminución de las defensas antioxidantes. La glucosa, al igual que otros alfa-hidroxialdehídos, es capaz de autooxidarse a enediones (enolizarse) en solución acuosa y en presencia de metales de transición, como el Fe^{+3} , reacción en la cual se producen citoaldehídos intermediarios oxidados y RL con un alto poder oxidante como el $O_2^{\bullet-}$.²⁴⁻²⁷

La interacción de los productos finales de la glucación avanzada (PFGA) 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 EROs y una disminución del GSH intracelular. Por otro lado, la glucación de las proteínas antioxidantes puede disminuir la actividad de éstas y la hemoglobina glucada puede constituir una fuente donadora de radical $O_2^{\bullet-}$ a la pared vascular en los diabéticos.²⁸⁻³¹

Se ha demostrado que la hiperglucemia favorece la producción de $O_2^{\bullet-}$ mitocondrial, lo que ocasiona, entre otros efectos adversos, la activación de la vía de los polioles (vías de los hexosaminas) y, consecuentemente, una disminución de NADPH, que constituye el cofactor de las enzimas generadoras de GSH. Es decir, es evidente que estamos frente a un mecanismo de retroalimentación positiva en el cual el estrés oxidativo activa a la vía de los polioles y, a su vez, contribuye a la generación de más

RL y, por tanto, a acentuar aún más el desbalance redox.^{25,28,32-34}

En los individuos diabéticos existe también disminución de las defensas antioxidantes, entre las que se incluyen el 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 quinasa C.³⁵⁻³⁸

Se ha precisado además, que el desbalance entre los EROs y los antioxidantes es un elemento patogénico importante de la resistencia a la insulina, debido a que durante el estado de estrés oxidativo no se estimulan adecuadamente las vías de señalización mediados por esta hormona. Así, también se ha comprobado que existe una correlación entre el nivel de control metabólico y el grado de severidad del estrés oxidativo en los individuos diabéticos.³⁹⁻⁴²

Peroxidación lipídica en la diabetes mellitus

Numerosos estudios han demostrado la abundante presencia de productos derivados de la peroxidación lipídica en la sangre y tejidos de los sujetos diabéticos.⁴³⁻⁴⁶

La peroxidación lipídica constituye probablemente el proceso inducido por RL más investigado. En éste, los ácidos grasos insaturados reaccionan (en cadena) con el O_2 molecular y se forman hidroperóxidos, los cuales son degradados a una variedad de productos como, dienos conjugados, alcanos, aldehídos e isoprostanos, entre otros, los cuales pueden ser cuantificados por diferentes métodos. 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).^{35,47-49}

Los daños derivados de la oxidación pueden afectar tanto a los lípidos de las membranas celu-

lares como a los contenidos en las lipoproteínas plasmáticas. En el primer caso, provocarían un inadecuado funcionamiento celular y se presume que sea una de las causas del envejecimiento prematuro que experimentan algunos individuos diabéticos.²⁰

En el caso de las lipoproteínas plasmáticas, todas las conocidas pueden sufrir los daños derivados de la oxidación de sus lípidos. Alteración de la lipoproteína de alta densidad (HDL) y de la de muy baja densidad (VLDL), puede afectar el transporte reverso del colesterol y la aclaración de los triglicéridos plasmáticos, respectivamente. Por su parte, la peroxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) constituye quizás la mayor contribución de los RL a la génesis y agravamiento de la aterosclerosis. Las modificaciones oxidativas de la LDL le confieren un mayor poder aterogénico a esta macromolécula.⁵⁰⁻⁵³ Asimismo, se conoce que en los sujetos diabéticos con control metabólico no aceptable existe mayor susceptibilidad de la LDL a la oxidación y mayor cantidad de LDL oxidadas que en los que tienen un control óptimo.⁵⁴⁻⁵⁶

10

Oxidación de proteínas en la diabetes mellitus

El daño oxidativo a las proteínas tiene una bioquímica muy compleja. Los mecanismos de daño operantes en cada sistema generador de RL pueden ser diferentes y también pueden variar en dependencia de la proteína afectada. El daño oxidativo de las proteínas tiene vínculos con el que se produce en otras biomoléculas. En términos generales, la modificación oxidativa de las proteínas incrementa su degradabilidad y susceptibilidad a la proteólisis, probablemente por el aumento de su hidrofobicidad, 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 extracelular.⁵⁷

El contenido de carbonilos proteicos es el marcador más ampliamente utilizado para medir la modificación oxidativa de las proteínas y se ha sugerido que es un marcador confiable de estrés oxidativo.⁵⁸ Asimismo, el contenido de carbonilos proteicos se correlaciona positivamente con las complicaciones de la diabetes.⁵⁹⁻⁶¹

Una de las proteínas que puede sufrir daño oxidativo en los diabéticos es la insulina, lo cual provoca cambios químicos y estructurales en esta hormona 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.⁶² 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 insulínica.⁶³⁻⁶⁵

Estrés oxidativo y retinopatía diabética

La retina es el tejido neurosensorial del ojo y es extremadamente rica en membranas con lípidos poliinsaturados, característica que la hace especialmente sensible a la acción deletérea de los RL derivados del oxígeno y el nitrógeno. Después de 20 años de diabetes, prácticamente todos los pacientes con una diabetes mellitus tipo 1 y más de 60% de los enfermos con diabetes mellitus tipo 2, tiene algún grado de retinopatía diabética (RD), en cuyo origen se conoce que están implicados los LR.⁶⁶⁻⁶⁷

Kowluru estudió ratas en las que se indujo una diabetes mediante la inyección de aloxano y demostró que en la retina de éstas había un aumento de la concentración de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico y de óxido nítrico (ON), y un incremento de la actividad de la proteína quinasa C, además de una disminución de la concentración de GSH.⁶⁸ Por su parte, Du y colaboradores demostraron que la hiperglucemia incrementa la producción de ON en las células retinianas, lo que se debe al

aumento de la actividad de la ON sinteasa. Este aumento de ON se acompaña de la generación de peroxinitrito, el cual está implicado en la aparición de apoptosis en las células nerviosas de la retina.⁶⁹ Asimismo, algunos autores informan que el cambio más dramático que se produce de manera precoz en la retina neurosensorial de ratas diabéticas es el aumento de la frecuencia de la apoptosis, sobre todo, en las células gliales.⁷⁰⁻⁷¹

Otros investigadores han informado que existe un aumento del estrés oxidativo y carbonílico en el humor vítreo de los sujetos diabéticos, que afecta a las proteínas de este medio transparente del ojo.^{39,72}

Dado que la retina es una parte del ojo que se caracteriza por su riqueza en lípidos, se ha planteado que la peroxidación lipídica constituye uno de los mecanismos patogénicos fundamentales mediante los cuales el estrés oxidativo daña a esta estructura.⁷³⁻⁷⁵

Estrés oxidativo y nefropatía diabética

El riñón es otro órgano que puede sufrir los daños derivados del aumento del estrés oxidativo que acompaña a la hiperglucemia crónica. Un blanco frecuente del ataque de los RL en el riñón son los lípidos de las membranas de las células renales, lo cual provoca la peroxidación de éstos, y altera la integridad y la función de estas membranas.^{76,77} El estrés oxidativo puede afectar la función glomerular debido a su acción deletérea sobre las células mesangiales y endoteliales glomerulares; de hecho, se considera que el glomérulo es considerablemente más sensible al daño oxidativo que otros segmentos del nefrón, tales como el túbulo proximal. Por otro lado, la acumulación de LDL oxidadas en el mesangio induce la proliferación y apoptosis de las células mesangiales.^{78,79}

En el caso de las células tubulointersticiales, su exposición a las LDL oxidadas puede dañarlas. Se ha reportado también que los RL inducen la expresión de genes de mediadores inflamatorios en las células

del epitelio tubular renal, los que promueven el reclutamiento de leucocitos y macrófagos a este nivel, células que contribuyen a aumentar la lesión preestablecida.⁸⁰

En el riñón de ratas con diabetes inducida por estreptozotocina, el bloqueo tanto del receptor de la angiotensina como de la inhibición de la enzima convertidora previene el desarrollo del daño oxidativo renal. La angiotensina II puede producir hipertrofia de las células tubulares y estimular la producción de $O_2^{\cdot-}$ por las células endoteliales y mesangiales, y este RL se une luego al ON formando entonces el dañino radical peroxinitrito. Finalmente, la disminución de la concentración de ON provocada por su rápida conversión en peroxinitrito, favorece la vasoconstricción de la arteriola aferente en respuesta a la liberación de cloruro de sodio por la mácula densa y con ello disminuye el filtrado glomerular.⁸¹

Estrés oxidativo y neuropatía diabética

Más de la mitad de los sujetos con diabetes mellitus desarrollan una neuropatía y los así afectados tienen 15% de probabilidad de sufrir una o más amputaciones.

En el estado diabético, la excesiva acumulación de $O_2^{\cdot-}$ y el resultante incremento de la actividad de la proteína quinasa C y del flujo de las hexosaminas provocan disfunción celular progresiva. En los nervios, esta confluencia de alteraciones metabólicas y vasculares producen trastornos en la función neuronal y favorecen la pérdida del soporte neurotrófico y, a largo plazo, la aparición de la apoptosis de las neuronas, de las células de Schwann y de las células gliales.⁸²⁻⁸⁴

Estrés oxidativo y diabetes durante el embarazo

Importantes malformaciones fetales aparecen en 8 a 12% de los hijos de madres diabéticas preges-

tacionales; esta dismorfogénesis se produce fundamentalmente durante las primeras 10 semanas de gestación, periodo de desarrollo del producto conocido como embriogénico.⁸⁵

Se conoce ya que los efectos teratogénicos de la diabetes están relacionados, entre otros aspectos, con el aumento del estrés oxidativo que la acompaña, lo cual afecta directamente a la unidad fetoplacentaria e, incluso, también a la madre diabética.⁸⁶⁻⁸⁸

Alternativas terapéuticas para reducir el estrés oxidativo

Sin lugar a dudas, lo primero que debe garantizarse para disminuir el estrés oxidativo que se asocia con la diabetes mellitus es un óptimo control metabólico, lo cual, en general, tendrá como efecto una disminución de la disponibilidad de la materia prima necesaria para la formación de los RL.⁸⁹⁻⁹⁰

Por otro lado, mucho se ha hablado de la utilidad de la terapia antioxidante para prevenir o disminuir los efectos de la hiperglucemia crónica y del estrés oxidativo sobre los tejidos y órganos,⁹¹⁻⁹³ pero hasta ahora muy poco acerca de este tema puede considerarse ciencia constituida. Para disminuir el estrés oxidativo en diabéticos, algunos científicos recomiendan el uso de vitaminas con reconocido poder antioxidante como las vitaminas E y C.^{94,95} La disminución de la generación de EROs ha sido demostrada en ratas diabéticas cuando éstas han sido tratadas con alfa tocoferol,²⁸ al igual que la restauración de la respuesta relajante endotelial a la metacolina en diabéticos tipo 1 y 2 con el uso de ácido ascórbico.^{96,97}

Otros estudios muestran que el tratamiento con ácido alfa lipoico, mejora ostensiblemente la neuropatía diabética y eleva las defensas antioxidantes en las diabéticas tipo 1, efecto este último que también se ha constatado con el uso de ácidos grasos de la serie omega-3.²⁸ Asimismo, también se ha utilizado el aminoácido glicina a dosis relativamente altas, para evitar la glucosilación de las proteínas y para disminuir el estrés oxidativo en diabéticos, que la acompaña.⁹⁸

Finalmente, sí está comprobado que no existe mejor terapia antioxidante que el seguimiento de un estilo de vida saludable, el cual incluye entre sus pilares, una dieta sana, la cual debe irremisiblemente contener carbohidratos complejos, proteínas de alto valor biológico, grasas beneficiosas y hasta vino, el cual contiene diversas sustancias antioxidantes como, compuestos flavonoides y fenólicos.^{99,100}

Consideraciones finales

Los sistemas biológicos del ser humano pueden, en situaciones especiales, generar EROs que son dañinos para el organismo. Entre los EROs más importantes se encuentran, el anión $O_2^{\cdot-}$, el radical OH^{\cdot} y el H_2O_2 y también se forman especies reactivas del nitrógeno como el radical peroxinitrito. La producción de EROs está limitada en el organismo sano por las defensas antioxidantes, pero cuando se rompe el equilibrio redox, ya sea por un aumento de la generación de RL o por una disminución de los sistemas defensivos antioxidantes, se producen lesiones en los diferentes tejidos y órganos de la economía. La elevación de los niveles de EROs se ha relacionado con la aparición de las complicaciones vasculares crónicas en los sujetos que padecen diabetes mellitus, independientemente de cuál sea el tipo de ésta. Así, se ha comprobado que en los diabéticos existe un incremento del estrés oxidativo, en comparación con los individuos supuestamente sanos, e incluso que éste es mayor en los enfermos con mal control metabólico y complicados, que en quienes no presentan complicaciones crónicas y tiene control óptimo de la enfermedad, por lo que se considera que el alcance de esta meta es el primer paso en el tratamiento del estrés oxidativo que se relaciona con la diabetes mellitus, además de que pueden usarse otras terapias antioxidantes.

Referencias

- Rodríguez JM, Menéndez JR, Trujillo Y. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. Rev Cub Med Milit 2001; 30 (1): 15-20.

2. Hicks JJ, Torres YD, Sierra MP. Estrés oxidativo. Concepto y clasificación. *Rev Endocrinol Nutr* 2006; 14 (4): 223-226.
3. Venereo JR. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev Cub Med Milit* 2002; 31 (2): 126-133.
4. Irshad M, Chaudhuri PS. Oxidant-antioxidant system: role and significance in human body. *Indian J Exp Biol* 2002; 40 (11): 1233-1239.
5. Karageuzyan KG. Oxidative stress in the molecular mechanism of pathogenesis at different diseased states of organism in clinics and experiment. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2005; 4 (1): 85-98.
6. Guzmán AM, Velázquez A, Sierra MP. Óxido nítrico, estrés nitroso y función mitocondrial. *Rev Endocrinol Nutr* 2006; 14 (4): 227-232.
7. Ceballos G, Ramírez I, Calzada CC, Olivares IM. Disfunción endotelial y estrés oxidativo. *Rev Endocrinol Nutr* 2006; 14 (4): 233-236.
8. López P, Cubillos LA, Chinchilla MA, Acevedo IC. Endotelio. Célula generadora de radicales libres. *Acta Med Colomb* 2001; 26 (4): 166-168.
9. Hesitad DD. Oxidative Stress and Vascular Disease. *Artheroscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 689.
10. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2002; 82 (1): 47-95.
11. León D, Larrondo H. Medicina crítica y estrés oxidativo. *Rev Cub Invest Biomed* 2000; 19 (3): 196-198.
12. Elejalde JL. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *An Med Interna* 2001; 18 (6): 1-28.
13. Ríos MC. El estrés oxidativo y el destino celular. *Rev Química Viva* 2003; 2 (1): 1-14.
14. Elejalde JL. Oxidación, entre la vida y la enfermedad. *An Med Interna* 2001; 18 (1): 1-4.
15. Kalyanaraman B, Pérez E, Mason RI. Spin trapping and direct electron spin resonance investigations of the redox metabolism of quinone anticancer drugs. *Biochim Biophys Acta* 1980; 630: 119-130.
16. Zweir JL, Flaherty JT, Weisfeldt ML. Direct measurement of free radical generation following reperfusion of ischemic myocardium. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 1404-1407.
17. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1978; 52: 302-310.
18. Fridovich I. Quantitative aspect of production of superoxide anion radical by milk xantina oxidase. *J Biol Chem* 1970; 245: 4035-4042.
19. Prasad K, Kaira J, Bhardwai B. Increased chemiluminescence of polymorphonuclear leukocytes in dogs with volume overload heart failure. *Br J Exp Pathol* 1989; 70: 463-468.
20. Castro M, Rodríguez L. El endotelio: Una encrucijada en las complicaciones vasculares de la diabetes en el anciano. *Angiología* 2006; 58 (1): 1-9.
21. Piconi L, Quaglioro L, Ceriello A. Oxidative stress in diabetes. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41 (9): 1144-1149.
22. Ceriello A. Postprandial hyperglycemia and diabetes complications: is it time to treat? *Diabetes* 2005; 54 (1): 1-7.
23. Rebolledo OR, Actis Dato SM. Postprandial hyperglycemia and hyperlipidemia-generated glycooxidative stress: Its contribution to the pathogenesis of diabetes complications. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2005; 9 (4): 191-208.
24. Clapés S, Armas D, Marquetty A, Lemani M, Márquez I, Díaz D et al. Disminución de la capacidad antioxidante en niños y adolescentes diabéticos. *Rev Cub Invest Biomed* 2006; 25 (2): 1-7.
25. Pennathur S, Heinecke JW. Mechanisms of oxidative stress in diabetes: Implications for the pathogenesis of vascular disease and antioxidant therapy. *Front Biosci* 2004; 9: 565-574.
26. Weirnsperger NF. Oxidative stress: Special case of diabetes. *Biofactors* 2003; 19 (1-2): 11-8.
27. Núñez RI, Socarrás EL, González Z, Chávez J, Cano C, Amell A et al. Determinación de agentes antioxidantes séricos en diabéticos tipo 2. *Med Interna (Caracas)*. 2001; 17 (4): 1-10.
28. Díaz D. Hiperglicemia y estrés oxidativo en el paciente diabético. *Rev Cub Invest Biomed* 2006; 25 (3): 1-9.
29. Ahmed N, Babaei-Jadidi R, Howell SK, Beisswenger PJ, Thornalley PJ. Degradation products of proteins damaged by glycation, oxidation and nitration in clinical type I diabetes. *Diabetologia* 2005; 48 (8): 1590-1603.
30. Yim MB, Yim HS, Lee C, Kang SO, Chock PB. Protein glycation: creation of catalytic sites for free radical generation. *Ann NY Acad Sci* 2001; 928: 48-53.
31. Lapolla A, Reitano S, Seraglia R, Sartore G, Ragazzi E, Traldi P. Evaluation of advanced glycation end products and carbonyl compounds in patients with different conditions of oxidative stress. *Mol Nutr Food Res* 2005; 49 (7): 685-690.
32. Chung SS, Ho EC, Lam KS, Chung SK. Contribution of polyol pathway to diabetes-induced oxidative stress. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14 (8): 233-236.
33. Inoguchi T, Natawa H. NAD (P)H oxidase activation: A potential target mechanism for diabetic vascular complications, progressive beta-cell dysfunction and metabolic syndrome. *Curr Drug Targets* 2005; 6 (4): 495-501.
34. Ahmad FK, He Z, King GL. Molecular targets of diabetic cardiovascular complications. *Curr Drug Targets* 2005; 6 (4): 487-494.
35. Cohen RA. Role of nitric oxide in diabetic complications. *Am J Ther* 2005; 12 (6): 499-502.
36. Ceriello A. Nitrotyrosine: new findings as a marker of postprandial oxidative stress. *Int J Clin Pract Suppl* 2002; 129: 51-58.
37. Koo JR, Vaziri MD. Effects of diabetes, insulin and antioxidants on ON synthase abundance and NO interaction with reactive oxygen species. *Kidney Int* 2003; 63 (1): 195-201.
38. Prizzi F, Leto G, Amadio L, Iacobine C, Cordone S, Catalano S et al. Oxidative stress in diabetes-induced endothelial dysfunction involvement of nitric oxide and protein kinase C. *Free Radic Biol Med* 2003; 35 (6): 683-694.
39. Al-Dallen SM, Chávez T, Martínez G, Ferreira E, León OS. El equilibrio redox en la diabetes y sus complicaciones. *Acta Farm Bonaerense* 2004; 23 (2): 231-242.
40. Frank GD, Equchi S, Motley ED. The role of reactive oxygen species in insulin signaling in the vasculature. *Antioxid Redox Signal* 2005; 7 (7-8): 1053-1061.
41. Evans JL, Maddux BA, Goldfine ID. The molecular basis for oxidative stress-induced insulin resistances. *Antioxid Redox Signal* 2005; 7 (7-8): 1040-1052.
42. Komosinska-Vassev K, Olczyk K, Olczyk P, Winsz-Szczotka K. Effects of metabolic control and vascular complications on indices of oxidative stress in type 2 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract* 2005; 68 (3): 207-216.
43. Clapés S, Torres O, Companioni M, Villariño U, Broche F, Céspedes EM. Peroxidación lipídica y otros indicadores de estrés oxidativo en pacientes diabéticos. *Rev Cub Invest Biomed* 2001; 20 (2): 1-8.
44. Beristain AS, Sánchez MA, Ruiz M, Mendoza VM. Estrés oxidativo como factor de riesgo para el desarrollo de diabetes mellitus, osteoartritis o hipertensión arterial en adultos mayores. *Bioquímica* 2006; 31 (1): 13-22.
45. García C, Díaz MT, Morales F. Presencia de las especies reactivas de oxígeno en la diabetes mellitus insulino dependiente. *Av Diabetol* 2005; 21: 145-148.

46. Mora AC, Aragón DM, Ospina LF. Caracterización del estrés oxidativo en ratas wistar diabéticas por estreptozotocina. *Rev Fac Quim Farmac* 2009; 16 (3): 311-319.
47. Obregón O, Lares MC, Castro J, Garzazo G. Potencial de oxidación de las lipoproteínas de baja densidad en una población normal y en una población con diabetes mellitus tipo 2. *Arch Venez Farmacol Terap* 2004; 23 (1): 1-12.
48. Dani G, Falco A, Patrono C. Lipid peroxidation in diabetes mellitus. *Antioxid Redox Signal* 2005; 7 (1-2): 256-268.
49. Seghrouchni I, Drai J, Bannier E, Riviere J, Calmard P, García I et al. Oxidative stress parameters in type 1, type 2 and insulin-treated type 2 diabetes mellitus; insulin treatment efficiency. *Clin Chim Acta* 2002; 321 (1-2): 89-96.
50. Olgun G, Meléndez G, Zúñiga A, Pasquetti A. Antioxidantes y aterosclerosis. *Rev Endocrinol Nutr* 2004; 12 (4): 199-206.
51. Farhangkhoei H, Khan ZA, Barbin Y, Chakrabarti S. Glucose-induced up-regulation of CD36 mediates oxidative stress and microvascular endothelial cell dysfunction. *Diabetologia* 2005; 40 (7): 1401-1410.
52. Aronson D, Rayfield EJ. How hyperglycemia promotes atherosclerosis: Molecular mechanisms. *Cardiovasc Diabetol* 2002; 1: 1.
53. Yamageshi S, Nakamura K, Takeuchi M, Imaizumi T. Molecular mechanism for accelerated atherosclerosis in diabetes and its potential therapeutic intervention. *Int J Clin Pharmacol Res* 2004; 24 (4): 129-134.
54. Karasik A. Glycaemic control is essential for effective cardiovascular risk reduction across the type 2 diabetes continuum. *Ann Med* 2005; 37 (4): 250-258.
55. Home P. Contributions of basal and post-prandial hyperglycaemia to micro- and macrovascular complications in people with type 2 diabetes. *Curr Med Res Opin* 2005; 21 (7): 989-998.
56. Yamagishi S, Imaizumi T. Diabetic vascular complications, pathophysiology, biochemical basis and potential therapeutic strategy. *Curr Pharm Des* 2005; 11 (18): 2277-2278.
57. Vicedo A, Vicedo Y. Relaciones del estrés oxidativo con el catabolismo de proteínas. *Rev Cub Invest Biomed* 2000; 19 (3): 206-212.
58. Chevion M, Berenshtein E, Stadtman ER. Human studies related to protein oxidation: Protein carbonyl content as a marker of damage. *Free Radical Research* 2002; 33 (suppl): 99-108.
59. Lyons TJ. Glycation, carbonyl stress, EAGLes, and the vascular complications of diabetes. *Semin Vasc Med* 2002; 2 (2): 175-189.
60. Miyata T. Alterations of non-enzymatic biochemistry in uremia, diabetes, and atherosclerosis («carbonyl stress»). *Bull Mem Acad R Med Belg* 2002; 157 (3-4): 189-196.
61. Beisswenger PI, Drummond KS, Nelson RG, Howell SK, Szwergold BS, Mauer M. Susceptibility to diabetic nephropathy is related to dicarbonyl and oxidative stress. *Diabetes* 2005; 54 (11): 3274-3281.
62. Olivares IM, Medina R, Torres YD, Montes DH. Daño a proteínas por estrés oxidativo: Lipoproteína de baja densidad e insulina. *Rev Endocrinol Nutr* 2006; 14 (4): 237-240.
63. Pessler D, Rudich A, Bashan N. Oxidative stress impairs nuclear proteins binding to the insulin responsive element in the GLUT 4 promoter. *Diabetologia* 2001; 44 (12): 2156-2164.
64. Frank GO, Eguchi S, Motley ED. The role of reactive oxygen species in insulin signaling in the vasculature. *Antioxid Redox Signal* 2005; 7 (7-8): 1053-1061.
65. Evans JL, Maddux BA, Goldfine ID. The molecular bases for oxidative stress-induced insulin resistance. *Antioxid Redox Signal* 2005; 7 (7-8): 1040-1052.
66. Van Reyk DM, Gillies MC, Davies MJ. The retina: Oxidative stress and diabetes. *Redox Rep* 2003; 8 (4): 187-192.
67. Funatsu H, Yamashita H. Pathophysiology of diabetic retinopathy. *Drug News Perspect* 2002; 15 (10): 633-639.
68. Kowluru RA. Effects of reinstatement of good glycemic control on retinal oxidative stress and nitrate stress in diabetic rats. *Diabetes* 2003; 52: 818-823.
69. Du Y, Smith MA, Miller CM, Kern TS. Diabetes-induced nitrate stress in the retina, and correction by aminoguanidine. *J Neurochem* 2002; 80 (5): 771-779.
70. Miranda M, Muriach M, Johnsen S, Bosh-Morell F, Araiz J, Roma J. Estrés oxidativo en un modelo de retinopatía diabética experimental: Tratamiento con antioxidantes. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2004; 79 (6): 1-13.
71. Miranda M, Muriach M, Roma J, Bosh-Morell F, Genovés JM, Barcia J et al. Estrés oxidativo en un modelo de retinopatía diabética experimental II: Utilidad de agentes secuestrantes de peroxinitro. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2006; 81: 27-32.
72. Yokoi M, Yamagishi SI, Takeuchi M, Ohgami K, Okamoto T, Saito W et al. Elevations of AGE and vascular endothelial growth factor with decreased total antioxidant status in the vitreous fluid of diabetic patients with retinopathy. *Br J Ophthalmol* 2005; 89 (6): 673-675.
73. Yue KK, Chung WS, Leung AW, Cheng CH. Redox changes precede the occurrence of oxidative stress in eyes and aorta, but not in kidneys of diabetic rats. *Life Sci* 2003; 73 (20): 2557-2570.
74. Curtis TM, Scholfield CN. The role of lipids and protein kinase Cs in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Diabetes Metab Res Rev* 2004; 20 (1): 28-43.
75. Gupta MM, Chari S. Lipid peroxidation and antioxidant status in patients with diabetic retinopathy. *Indian J Physiol Pharmacol* 2005; 49 (2): 187-192.
76. Obrosova IG, Fathallah L, Liu E, Nourooz-Zadeh J. Early oxidative stress in the diabetic kidney: effect of DL-alpha-lipoic acid. *Free Radic Biol Med* 2003; 34 (2): 186-195.
77. Bhatia S, Skukla R, Venkata Madhu S, Kaur Gambhir J, Madhava Prabhu K. Antioxidant status, lipid peroxidation and nitric oxide end products in patient of type 2 diabetes mellitus with nephropathy. *Clin Biochem* 2003; 36 (7): 557-562.
78. Lal MA, Brismar H, Eklof AC, Aperia A. Role of oxidative stress in advanced glycation and product-induced mesangial cell activation. *Kidney Int* 2002; 61 (6): 2006-2014.
79. Catherwood MA, Powell LA, Anderson P, McMaster O, Sharpe PC, Trimble ER. Glucose-induced oxidative stress in mesangial cells. *Kidney Int* 2002; 61 (2): 599-608.
80. Lee HB, Yu MR, Yang Y, Jiang Z, Ha H. Reactive oxygen species-regulated signaling pathways in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14 (8 suppl 3): 241-245.
81. Castillo R, Huerta P, Carrasco R, Rodrigo R. Estrés oxidativo y daño renal. *CIMEL* 2003; 8 (1): 43-52.
82. Van Dam PS. Oxidative stress in diabetic neuropathy: pathophysiological mechanisms and treatment perspectives. *Diabetes Metab Res Rev* 2002; 18 (3): 176-164.
83. Obrosova IG. How does glucose generate oxidative stress in peripheral nerve? *Int Res Neurobiol* 2002; 50: 3-35.
84. Feldman EL. Oxidative stress and diabetic neuropathy: a new understanding of an old problem. *J Clin Invest* 2003; 111 (4): 431-433.
85. Clapés S. Diabetes mellitus, estrés oxidativo y embarazo. *Rev Cub Invest Biomed* 2000; 19 (3): 191-195.
86. Djordjevic A, Spasic S, Jovanovic-Galovic A, Djordjevic R, Grubor-Lajsic G. Oxidative stress in diabetic pregnancy: SOD, CAT and GSH-Px activity and lipid peroxidation products. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2004; 16 (6): 367-372.

87. Cederberg J, Basu S, Eriksson UJ. Increased rate of lipid peroxidation and protein carboxylation in experimental diabetic pregnancy. *Diabetologia* 2001; 44 (6): 766-774.
88. Persson B. Prevention of fetal malformation with antioxidants in diabetic pregnancy. *Pediatr Res* 2001; 49 (6): 755-762.
89. Erciyas F, Taneli F, Arslan B, Uslu Y. Glycemic control, oxidative stress, and lipid profile in children with type I diabetes mellitus. *Arch Med Res* 2004; 35 (2): 134-140.
90. Nedosugova LV, Lankin VZ, Balabolkin MI, Konovalova GG, Lisina MO, Antonova KV. Interrelation between compensation of carbohydrate metabolism and severity of manifestations of oxidative stress in type II diabetes mellitus. *Bull Exp Biol Med* 2003; 136 (2): 132-134.
91. Dincer Y, Alademir Z, Ilkova H, Akcay T. Susceptibility of glutation and glutathione-related antioxidant activity to hydrogen peroxide in patients with type 2 diabetes: effect of glycemic control. *Clin Biochem* 2002; 35 (4): 297-301.
92. Rosado J, Mendoza VM. Mini-revisión: Inflamación crónica y estrés oxidativo en la diabetes mellitus. *Bioquímica* 2007; 32 (2): 58-69.
93. Bonnefort-Rousselot D. The role of antioxidant micronutrients in the prevention of diabetic complications. *Treat Endocrinol* 2004; 3 (1): 41-52.
94. Chertow B. Advances in diabetes for the millenium: vitamins and oxidant stress in diabetes and its complications. *Med Gen Med* 2004; 6 (suppl 3): 4.
95. Rahimi R, Nekfar S, Larijani B, Abdollahi M. A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomed Pharmacother* 2005; 59 (7): 365-373.
96. Timimi FK, Ting HH, Haley EA, Roddy MA, Ganz P, Creager MA. Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation in patient with insulin-dependent diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31: 552-557.
97. Ting HH, Timimi FK, Boles KS, Creager SJ, Ganz P, Creager MA. Vitamin C improves indothelium-dependent vasodilation in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1996; 97: 22-28.
98. Carvajal G, Zamudio P, Carvajal ME, Juárez EV. Prevención de los daños producidos por la diabetes mellitus y la senescencia. *Gac Med Mex* 2007; 143 (1): 51-59.
99. Clark SF. The biochemistry of antioxidants revisited. *Nutr Clin Pract* 2002; 17 (1): 5-17.
100. Caimi G, Carollo C, Lo Presti R. Diabetes mellitus: oxidative stress and wine. *Curr Med Res Op* 2003; 19 (7): 581-586.