



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES**

**"ZARAGOZA"**

**INFLUENCIA DEL ENVEJECIMIENTO SOBRE EL ESTRÉS OXIDATIVO  
Y EL PROCESO DE INFLAMACION CRÓNICA EN PACIENTES CON  
DIABETES MELLITUS TIPO II**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

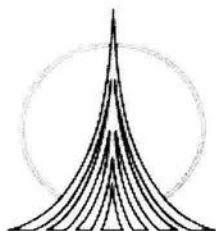
**P R E S E N T A**

**JUANA ROSADO PÉREZ**

**ASESORES:**

**M en C. RAQUEL RETANA UGALDE  
DR. VICTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ**

**JUNIO 2004**





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Gracias a Dios, por darme lo que tengo, por ponerme en este espacio, tiempo y lugar y por rodearme de esta gente que me ha enseñado y acompañado hasta aquí.

Este trabajo que por fin terminé lo dedico a mis padres, papi, ma, gracias por darme su apoyo en todos los sentidos, por su amor y confianza desde siempre y a pesar de la distancia; a ustedes chamacas, Ivan, por ser como son, por ayudarme y ser motivo y ejemplo, los quiero mucho y gracias por todo. A la familia Rosado Zúñiga por su apoyo de tantos años. A todos los compañeros y amigos que han tenido en algún momento tiempo, paciencia y afecto para mí, gracias a todos, también a los que ya no están.

Quiero agradecer a los miembros de la Unidad de Investigación en Gerontología por hacerme parte de este equipo de trabajo, al Dr. Mendoza por su asesoría, a las maestras Mirna, Martha y Raquel, por su paciencia y por compartir sus conocimientos conmigo tanto dentro como fuera del laboratorio. Gracias también al Programa de Apoyo de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la UNAM con número IN- 204301-2 por brindar recursos para el desarrollo de este proyecto.

---

---

## ÍNDICE

1. Resumen	1
2. Introducción	2
3. Marco Teórico	3
3.1 Envejecimiento Biológico	3
3.2 Transición demográfica	7
3.3 Transición epidemiológica	8
3.4 Leptina y envejecimiento	10
3.5 Estrés oxidativo y envejecimiento	12
3.6 Diabetes mellitus y envejecimiento	16
3.6.1. Diabetes mellitus e hiperleptinemia	17
3.6.2. Estrés oxidativo e inflamación en diabetes mellitus	19
4. Planteamiento del problema	23
5. Hipótesis	24
6. Objetivo	25
7. Material y Métodos	26
7.1 Población y diseño	26
7.2 Variables	26
7.3 Técnicas	28
7.4 Diseño estadístico	39
8. Resultados	41
9. Discusión	51
10. Conclusiones	56
11. Perspectivas	57
12. Referencias	58

---

---

## 1. RESUMEN

**Antecedentes:** El envejecimiento es un proceso adaptativo que implica una disminución de la respuesta homeostática como resultado de la acumulación de daños estructurales y funcionales por carga alostática. Así mismo, ha sido asociado con procesos fisiopatológicos como la hiperleptinemia, estrés oxidativo y la inflamación crónica, los cuales también se presentan en la diabetes mellitus (DM), por lo que esta enfermedad ha sido propuesta como un modelo de envejecimiento acelerado. Por tal motivo, se infiere que los adultos mayores (AM) con DM tipo2 presentarán mayor EOX, hiperleptinemia y niveles altos de proteína C reactiva (PCR) que los diabéticos jóvenes.

**Objetivo:** Determinar la influencia del envejecimiento sobre el estrés oxidativo, los niveles séricos de leptina y el proceso inflamatorio crónico en sujetos con DM 2.

**Método:** Se realizó un estudio observacional, prolectivo, transversal y comparativo en una población de 97 sujetos con DM tipo 2, 50 AM con promedio de edad de  $68 \pm 7$  años y 47 adultos jóvenes (AJ) con edad promedio de  $50 \pm 5$  años. A todos los participantes se les realizaron mediciones antropométricas, química sanguínea, hemoglobina glucosilada (HbA1c), y biometría hemática; se determinaron marcadores de estrés oxidativo: lipoperoxidos (LPO), superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx) y capacidad antioxidante total sérica (AT). También se les cuantificó leptina por método inmunoradiométrico (IRMA) e insulina por radioinmunoensayo (RIA). Los datos fueron analizados a través de medias, desviación estándar, regresión lineal, regresión logística y frecuencias utilizando el paquete estadístico SPSS V.10.0.

**Resultados:** Las concentraciones de HbA1c y LPO fueron significativamente más altas en los AJ ( $p < 0.01$ ), al igual que los niveles de SOD ( $p < 0.05$ ). Los niveles de leptina fueron mayores en las mujeres jóvenes y hombres ancianos sin significancia estadística. La frecuencia de niveles altos de LPO y HbA1c fue mayor en los AJ con  $p < 0.05$ , mientras la frecuencia de resistencia a la insulina y positividad a PCR fue mayor en los AM ( $p < 0.05$ ). Se encontró correlación estadísticamente significativa entre la leptina y la insulina ( $r = 0.52$ ;  $p < 0.01$ ) y correlación negativa con los triglicéridos (TG) ( $r = -0.444$ ;  $p = 0.034$ ) en las mujeres jóvenes, y en las mayores con los TG ( $r = 0.43$ ;  $p = 0.013$ ), insulina ( $r = 0.751$ ;  $p < 0.001$ ), resistencia a la insulina (RI) ( $r = 0.053$ ;  $p < 0.01$ ) y LPO ( $r = 0.040$ ;  $p < 0.05$ ). Resultaron factores de riesgo para la descompensación diabética la edad, menor a 59 años (RM = 9.12, IC<sub>95%</sub> 2.23-37.3), y dentro del grupo de los jóvenes la RI (RM=15.12, IC<sub>95%</sub> 0.56-404.5  $p = 0.105$ ), la actividad baja de SOD (RM=3.7 IC<sub>95%</sub> 0.51-27.5  $p = 0.195$ ) y LPO altos (RM=2.18, IC<sub>95%</sub> 0.35-13.52  $p = 0.401$ ) mientras que para los mayores fueron factores de riesgo la actividad baja de SOD (RM= 31.52, IC<sub>95%</sub> 1.01-983,  $p < 0.05$ ), los niveles altos de TG (RM=17.9, IC<sub>95%</sub> 0.42-772  $p = 0.133$ ), insulina (RM=9.17, IC<sub>95%</sub> 0.44-190.6  $p = 0.152$ ), colesterol, (RM=6.22 IC<sub>95%</sub> 0.25-153.6  $p = 0.264$ ) e IMC (RM=3.14 IC<sub>95%</sub> 0.36-27.9  $p = 0.304$ ).

**Conclusión:** Los niveles más altos de los marcadores de descompensación diabética en los AJ demuestran que el proceso de envejecimiento por si mismo, no implica mayor daño en los AM con DM2.

## 2. INTRODUCCIÓN

El envejecimiento es un proceso gradual, intrínseco, individualizado e inevitable que se caracteriza por la disminución de la capacidad del organismo para mantener la homeostasis, lo cual lo hace más susceptible a desarrollar enfermedades infecciosas y crónico-degenerativas.

En las últimas décadas se ha incrementado el interés en este proceso, debido, por un lado, al aumento significativo de la población mayor de 60 años en el mundo y por otro lado, debido a la transición epidemiológica ya que las enfermedades infecto-contagiosas han sido desplazadas por los padecimientos crónico-degenerativos; aunque en nuestro país se presentan tanto las enfermedades infecto-contagiosas como las crónico-degenerativas, de ahí que se señala que nos enfrentamos a una trampa epidemiológica, con altas repercusiones en los costos en los servicios de salud.

Por otro lado, evidencias científicas recientes han demostrado que el envejecimiento está asociado con el desarrollo de procesos fisiopatológicos que propician mayor deterioro del organismo, tales como el estrés oxidativo (EOx), la hiperleptinemia y el proceso inflamatorio crónico. En este sentido, se ha reportado que estas alteraciones juegan un papel importante en la patogenia de enfermedades de alta prevalencia durante la vejez, tales como la hipertensión arterial y la diabetes mellitus (DM), ésta última incluso ha sido calificada como un modelo de envejecimiento acelerado por las alteraciones y complicaciones similares a las del envejecimiento, independientemente de la edad de los pacientes.

Sin embargo, no existen reportes científicos concluyentes que demuestren que los adultos mayores (AM) diabéticos presenten mayor EOx e hiperleptinemia que los adultos jóvenes (AJ). Por tal motivo, la finalidad del presente estudio fue determinar la influencia del envejecimiento sobre los marcadores de EOx, leptina y proteína C reactiva (PCR) en pacientes con DM tipo 2.

### 3. MARCO TEÓRICO

#### 3.1. ENVEJECIMIENTO BIOLÓGICO

Aunque los filósofos y científicos se han interesado en el proceso de envejecimiento desde tiempos remotos, la medicina geriátrica es una de las especialidades médicas más jóvenes, ya que surge en 1960. En este sentido, en las últimas décadas, la atención hacia los problemas sociales y de salud de los adultos mayores ha sido una de las prioridades de los países desarrollados, considerando la mayor esperanza de vida y longevidad máxima; así mismo, algunos países en vías de desarrollo como el caso de México se encuentran en franco proceso de envejecimiento, de ahí que una de las áreas científicas relevantes para el estudio del envejecimiento sea la biogerontología, área en la que se enmarca la presente investigación. Al respecto, el incremento de la esperanza de vida ha sido un factor fundamental para el desarrollo de la biogerontología, ya que en la actualidad es posible tener conocimiento de los mecanismos biológicos de humanos longevos que han superado los 120 años de edad.<sup>1,2</sup>

A través del tiempo, han surgido diversas corrientes que pretenden explicar el envejecimiento, algunas desde enfoques unidisciplinares, otros desde un enfoque sistémico, y otros lo consideran y lo analizan como un proceso multifactorial. En este sentido, Harman en 1981 definió el envejecimiento como la acumulación de déficits biológicos como consecuencia de la edad avanzada, que propician una mayor susceptibilidad a la enfermedad y a la muerte.<sup>3</sup> Así mismo, Strehler y North en 1982 señalaron que el envejecimiento es un proceso deletéreo, progresivo, intrínseco y universal, caracterizado por una atrofia de todos los órganos y tejidos, generando una disminución de las funciones fisiológicas y una mayor vulnerabilidad a los padecimientos infecciosos, metabólicos, autoinmunes, neoplásicos, respiratorios, osteoarticulares y cardiovasculares.<sup>4</sup>

Para nuestros propósitos, definiremos al envejecimiento como un proceso gradual y adaptativo, caracterizado por una disminución relativa de la respuesta homeostática debida a las modificaciones morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y psicológicas, propiciadas por los cambios inherentes a la edad y al desgaste acumulado ante los retos que enfrenta el organismo a lo largo de la historia del individuo en un ambiente determinado.<sup>5</sup>

Independientemente de lo que impliquen los conceptos de envejecimiento, es importante mencionar que existen evidencias que soportan como mínimo cinco características comunes al envejecimiento en los mamíferos:

- I. Existe un incremento de la mortalidad con la edad después de la etapa de madurez. Se ha descrito un crecimiento exponencial de la muerte con el avance de la edad.
- II. Se dan cambios de la composición bioquímica de los tejidos con la edad. Hay disminución en la masa muscular y ósea con el envejecimiento, el tejido adiposo se incrementa, se desarrollan depósitos de lipofucsina, (pigmento de la edad) y hay entrecruzamiento con las proteínas estructurales como el colágeno, debido a procesos que se dan en el envejecimiento como la oxidación y la glicatación.
- III. Decremento progresivo en la capacidad fisiológica con la edad. Se ha documentado que existen muchos cambios fisiológicos con la edad, aun cuando no haya enfermedades.
- IV. Se reduce la habilidad para responder adaptativamente a los estímulos ambientales con la edad. En el envejecimiento, es un cambio fundamental la disminución de la habilidad para mantener la homeostasis.
- V. Incremento de la susceptibilidad y vulnerabilidad a la enfermedad. Se debe a que los cambios en la función de muchos tipos celulares lleva a disfunción de tejidos y órganos para finalmente propiciar enfermedades sistémicas.<sup>1</sup>



Dado que el envejecimiento implica todos esos cambios han surgido diversas teorías que tratan de explicarlo, sin embargo, ya que los cambios se manifiestan desde niveles moleculares, celulares, tejidos, órganos y sistemas es difícil encontrar una explicación completa de este proceso, además existen dificultades para hacer mediciones de marcadores biológicos para elucidar los mecanismos primarios sin intervención de los factores ambientales, por tanto, consideramos al envejecimiento como un proceso intrínseco, muy complejo y multifactorial.<sup>2</sup>

Desde el punto de vista del ciclo vital humano, el envejecimiento es un proceso que se inicia alrededor de la cuarta década de la vida y es precedido por dos etapas, la etapa de desarrollo que se da desde el nacimiento hasta los 24 años y la de madurez que inicia a los 25 años y termina a los 44 años aproximadamente dando paso al inicio del envejecimiento en el cual disminuye la eficiencia de las funciones del organismo, esta etapa continúa (no en todos los casos) con la etapa de longevidad máxima potencial que va desde los 80 años hasta los 130, que es la edad máxima calculada para el humano.<sup>5</sup>

Sin embargo, para unificar criterios, facilitar la realización y reporte de estudios y por cuestiones de índole social, por consenso internacional y de manera un tanto arbitraria, se ha establecido que anciano o adulto mayor es aquella persona mayor de 60 años en los países en vías de desarrollo y mayor de 65 en los países del primer mundo, aunque como ya se mencionó previamente, el envejecimiento biológico se inicia alrededor de los 45 años.<sup>6,7</sup>

Desde el punto de vista biológico se señala que el envejecimiento es consecuencia de la acumulación de daños genéticos aleatorios que limitan o afectan la formación o reparación del ADN, proteínas, carbohidratos y lípidos. Estos daños alteran el funcionamiento de las células, tejidos, órganos y sistemas, y por lo tanto se incrementa la vulnerabilidad a la enfermedad, lo cual se asocia a

las manifestaciones características del envejecimiento, tales como la pérdida de masa ósea y muscular, disminución en el funcionamiento de todos los sistemas, alteraciones en el oído y la visión y disminución en la elasticidad de la piel.<sup>8</sup>

Aunque inevitable, el envejecimiento no es un proceso genéticamente programado, ya que no se poseen instrucciones genéticas que le indiquen al organismo cómo y cuándo envejecer y morir, por lo tanto se puede aseverar que el envejecimiento, la esperanza de vida y la longevidad son consecuencia de la interacción de factores genéticos, ambientales y de los estilos de vida.<sup>9</sup>

Sin embargo, hay evidencias que demuestran una mayor supervivencia de las mujeres, lo cual podría estar ligado al cromosoma X, ya que se ha señalado que este cromosoma modula la producción de la glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa, la cual es fundamental en la producción de NADPH que mantiene el glutatión en estado reducido<sup>10</sup>. Así mismo, Hayflick (1990)<sup>11</sup> demostró en cultivo de células, que las células masculinas después de 30 duplicaciones dejaban de dividirse y perecían, sin embargo las células femeninas continuaban con la duplicación, evidenciando una ventaja biológica para las mujeres.

Por otro lado, en un estudio realizado en tejidos de neonatos humanos se comprobó que las células de las niñas son más resistentes al estrés oxidativo que las de los niños, debido a una mayor concentración intracelular de Glutatión,<sup>12</sup> también se ha reportado un efecto neuro-protector y cardio-protector de los estrógenos, ya que la estructura química del 17- $\beta$  estradiol, además de ser un esteroide tiene un componente monofenólico similar al que tiene la vitamina E,<sup>13</sup> además se ha evidenciado que los niveles séricos de la enzima glutatión peroxidasa son más altos en las mujeres que en los hombres a partir de los 20 años mostrando una diferencia estadísticamente significativa en la década de 50 a 59 años,<sup>14</sup> lo cual demuestra la ventaja biológica independientemente de la influencia que tienen los estrógenos antes de la menopausia.

Así mismo, una de las teorías biológica más aceptadas para explicar el proceso de envejecimiento y las enfermedades crónico-degenerativos de mayor prevalencia durante la vejez es la de los radicales libres (RL) propuesta por Harman en 1956.<sup>15</sup> la cual será revisada en detalle en el apartado de estrés oxidativo.

### 3.2. TRANSICIÓN DEMOGRÁFICA

La transición demográfica se refiere al incremento en la proporción de adultos mayores (AM) con respecto a la población de jóvenes. La Organización de Naciones Unidas (ONU) en el año 2002 reportó que el 10% de la población mundial era de mayores de 60 años (629 millones), y se tiene proyectado que esta cifra se incrementará a 2000 millones para el año 2050, lo que representa el 20% de la población mundial y para el año 2150 uno de cada tres humanos en el mundo será mayor de 60 años. De igual modo la ONU informó que en el año 2002 había en el mundo 210,000 individuos mayores de 100 años y se estima que para el 2050 la cifra se incrementará 15 veces, ascendiendo a 32 millones.<sup>16</sup>

México cursa actualmente por una fase avanzada de transición demográfica, ya que las tasas de mortalidad y natalidad son muy bajas y están próximas a que el crecimiento sea casi nulo. El crecimiento de la población en cifras absolutas se ha cuadruplicado en los últimos 50 años, pasando de 25 millones en 1950 a casi 100 millones de habitantes censados en el año 2000, de los cuales 7 millones eran mayores de 60 años. (Cuadro 3.1) Así mismo, se proyecta que la población total para el año 2050 se incrementará a 130 millones, estimando que uno de cuatro habitantes será AM, cifra que ascenderá a más de 32 millones.<sup>17-18</sup>

Cuadro 3.1. Población de mayores de 60 años en México.

Año	Población Total	Mayores de 60 años	Porcentaje (%)
1950	25,791,017	1,419,685	5.5
1970	48,225,238	2,709,238	5.6
1990	81,225,238	4,988,158	6.1
1995	91,158,290	5,969,643	6.5
2000	97,014,867	7,090,873	7.3
2025*	141,225,806	17,512,000	12.4
2050*	146,971,050	35,713,967	24.3

\*Proyecciones. Fuente: INEGI, 2002.

### 3.3. TRANSICIÓN EPIDEMIOLÓGICA

El envejecimiento poblacional secundario a la transición demográfica repercute en las causas de morbilidad y mortalidad de la población. En México hasta 1970 las principales causas de muerte eran las enfermedades infecciosas, las cuales han sido sustituidas por las crónico-degenerativas, de ahí que se señale que el país está cursando por una transición epidemiológica, sin embargo esto es ficticio señala Chávez (1993), ya que aclara que no se han resuelto las altas tasas prevalentes de padecimientos infecto-contagiosos y ahora además ya se tiene grandes problemas por los crónico-degenerativos.<sup>19</sup>

En este sentido, es importante señalar que las tres principales causas de muerte en los adultos mayores en el mundo y en México son en primer lugar las enfermedades del corazón, seguidas por la diabetes mellitus y los tumores malignos.<sup>20</sup> En este sentido y en el caso de la mortalidad en México y de manera particular en población de 65 años o más, se encuentran los padecimientos cardiacos, la diabetes mellitus (DM) y la enfermedad cerebrovascular. (Cuadro 3.2)

Así mismo, entre la primeras causas de morbilidad figura la hipertensión arterial, con una prevalencia de más del 50% en sujetos mayores de 50 años y la diabetes con una magnitud de más del 20% a partir de los 60 años, ambas patologías propician con mucha frecuencia limitaciones físicas en los adultos

mayores, de ahí la relevancia de prevenirlas, detectarlas y controlarlas oportunamente.<sup>21,22</sup>

Cuadro 3.2. Principales causas de mortalidad en edad posproductiva (>65 años) en la República Mexicana, 2001.

Número de orden	Causa	Defunciones	Tasa*	%
	Total	223,432	4,511.46	100
1	Enf. isquémicas del corazón	33,387	674.16	14.9
2	Diabetes Mellitus	29,639	598.48	13.3
3	Enfermedad cerebrovascular	19,253	388.76	8.6
4	EPOC	13,853	279.72	6.2
5	Cirrosis y otras Enf. crónicas del hígado	8,043	162.41	3.6
6	Enfermedades hipertensivas	7,788	157.28	3.5
7	Infecciones respiratorias agudas bajas	7,253	146.45	3.3
8	Desnutrición calórico proteica	6,231	125.82	2.8
9	Nefritis y nefrosis	6,060	122.37	2.7
10	Tumor maligno de tráquea, bronquios y pulmón	4,223	85.27	1.9
11	Tumor maligno de la próstata	3,560	71.88	1.6
12	Tumor maligno del estómago	2,951	59.59	1.3
13	Tumor maligno del hígado	2,667	53.85	1.2
14	Úlcera péptica	2,048	41.35	0.9
15	Anemia	2,047	41.33	0.9
16	Accidentes de tráfico de vehículo	1,771	35.76	0.8
17	Tumor maligno del páncreas	1,734	35.01	0.8
18	Enfermedades inf. intestinales	1,695	34.23	0.7
19	Tumor maligno del cuello del útero	1,653	33.38	0.7
20	Tumor maligno de colon y recto	1,534	30.98	2.9
	Causas mal definidas	6,576	132.78	26.6
	Las demás	59,466	1200.76	

\*Tasa por 100,000 habitantes. Fuente: INEGI/SSA, 2003 Disponible en: <http://www.salud.gob.mx>

---

---

### 3. 4. LEPTINA Y ENVEJECIMIENTO

La leptina, del griego *leptos*, delgado es una proteína de 167 aminoácidos y 16 KDa fue descubierta en 1994 por Zhang y cols.; su estudio ha despertado un gran interés académico y comercial, ya que su identificación y secuenciación ha hecho emerger investigación relacionada con los mecanismos involucrados en la regulación del peso corporal, la adiposidad y el metabolismo energético.<sup>23</sup>

Su ausencia, a causa de la mutación del gen OB que la codifica, provoca en los ratones homocigotos *ob/ob* obesidad severa, hiperfagia, hiperglucemia, hiperinsulinemia, resistencia a la insulina, esterilidad e hipotermia.<sup>24</sup> La mutación en este roedor resulta en la producción de una proteína truncada e inactiva la cual es degradada intracelularmente antes de ser secretada. En el hombre, este gen codifica para una proteína 84% análoga a la del ratón. Es sintetizada principalmente por los adipocitos en proporción a la cantidad de lípidos almacenados, por lo cual ha sido propuesta como el buscado factor lipostático postulado como regulador del balance energético a través de un mecanismo de retroalimentación negativa originado en los depósitos del tejido adiposo y actuando en los centros cerebrales, por medio de receptores específicos localizados en el hipotálamo.<sup>24-27</sup>

Sin embargo, en los seres humanos es reducido el número de casos en que la obesidad sea resultado de una codificación defectuosa por mutaciones en el gen OB, más bien se ha propuesto el desarrollo de resistencia a la leptina ya que el sistema de transporte que la hace llegar al cerebro es un sistema saturable, por lo que a pesar de tener niveles plasmáticos altos cuando el sistema se satura, la leptina no alcanza su blanco de acción en el cerebro, situación que puede empeorar debido a la capacidad del organismo para disminuir la expresión de receptores como medida de autorregulación ante la hiperleptinemia.<sup>28-30</sup>

Reportes recientes señalan que la leptina está asociada con una gran cantidad de procesos fisiológicos y patológicos además de la obesidad. (Fig. 3.1)

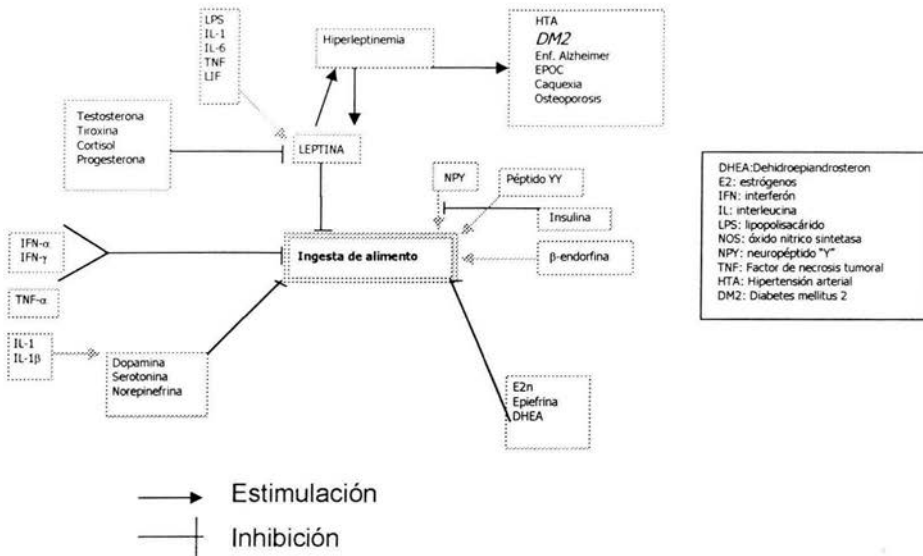


Fig. 3.1 Mecanismos fisiológicos y fisiopatológicos de la leptina.

Se ha encontrado que la leptina también está vinculada con la función reproductiva, el inicio de la pubertad, el embarazo, la lactancia, la ganancia de peso posparto y la infertilidad asociada a restricción energética y baja adiposidad corporal. Desempeña papeles importantes en procesos tan diversos como en la regulación del sistema inmune, en los procesos inflamatorios, en la función respiratoria y renal, en el metabolismo del tejido óseo, en la actividad de las hormonas sexuales, tiroideas y del crecimiento y en la actividad del sistema nervioso simpático.<sup>31-44</sup>

En cuanto al envejecimiento, algunos autores reportan que los niveles séricos de leptina disminuyen conforme aumenta la edad, sin embargo esta propuesta ha sido refutada en los últimos años ya que la mayoría de los estudios señalan que el envejecimiento se acompaña de un incremento en los niveles

séricos, por lo que además existe un alto porcentaje de sujetos mayores con hiperleptinemia, alteración metabólica que por su parte ha sido asociada con una gran cantidad de padecimientos que presentan alta frecuencia entre la población geriátrica tales como: infarto al miocardio, hipertensión arterial (HTA), enfermedad pulmonar obstructiva crónica, cáncer de mama y cáncer colorectal, alteraciones renales, hipotiroidismo, anormalidades en el perfil lipídico, correlación negativa con los niveles de testosterona, deficiencia de la hormona del crecimiento, caquexia y de manera muy importante con la DM.<sup>45-60</sup>

En este sentido, la leptina se ha vinculado con la fisiopatología de la diabetes debido a que se relaciona con la resistencia a la insulina, proceso que se da a la par con la hiperleptinemia en el envejecimiento, su papel en este proceso se verá en detalle en otro apartado.

### 3.5. ESTRÉS OXIDATIVO Y ENVEJECIMIENTO

Con el propósito de explicar el proceso de envejecimiento se han generado diversas teorías, una de las más aceptadas es la de los radicales libres propuesta por Denhan Harman en 1956, ésta plantea que el envejecimiento es el resultado de una inadecuada protección contra el daño tisular ocasionado por los radicales libres formados durante el metabolismo aeróbico normal.<sup>15,61</sup>

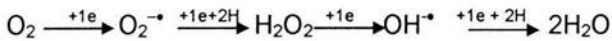
El oxígeno es un compuesto esencial en el metabolismo de todos los organismos aeróbicos, participa en diversas reacciones de oxidación, como la síntesis de ATP; durante la cual, el oxígeno molecular se reduce dando origen a productos intermediarios y finales más reactivos conocidos como especies reactivas de oxígeno (EROs), las que en su mayoría son radicales libres.<sup>62</sup>

Un radical libre es una especie química (molécula o átomo), que presenta al menos un electrón no apareado y es altamente reactivo. Se producen de manera



normal en el metabolismo aeróbico pero también se producen por células fagocíticas y en reacciones donde intervienen enzimas de la familia NADPH oxidasas asociadas al metabolismo del ácido araquidónico, como la ciclooxigenasa, la lipooxigenasa, y el citocromo P450, y como respuesta a la exposición a radiaciones ionizantes, rayos UV, contaminación ambiental, humo de cigarros, algunos fármacos, exceso de ejercicio e isquemia.<sup>62-64</sup>

Las especies reactivas de oxígeno se forman por la reducción secuencial de oxígeno, que primero produce al radical Superóxido, posteriormente al peróxido de hidrógeno y finalmente al radical hidroxilo, la reacción general puede representarse como sigue:<sup>63,65,66</sup>



Las consecuencias de las reacciones de los radicales libres con los diferentes materiales celulares pueden ser muy variadas. Los objetivos celulares frecuentemente atacados son el ADN, los lípidos membranales, así como proteínas y carbohidratos. A nivel de organelos se ha observado que las mitocondrias son sumamente sensibles a la presión oxidativa, lo que se refleja en cantidades elevadas de oxidación de lípidos y proteínas y en mutaciones del ADN mitocondrial.<sup>63,65,66,67</sup>

Sin embargo, los organismos poseen un sistema antioxidante que por diversos mecanismos de defensa que comprenden la captura de los productos intermediarios, la prevención de su formación, inhibición de su propagación y la reparación de las lesiones, limitan los niveles de moléculas reactivas oxidantes permitiendo la homeostasis de los mismos.<sup>62,64,66</sup>

Un antioxidante se define como aquella sustancia que, presente en bajas concentraciones comparada con los sustratos oxidables, retarda o previene

significativamente la oxidación de esos sustratos;<sup>68</sup> pueden actuar de diversas maneras, con base en las formas de actuación los sistemas antioxidantes se han clasificado como primarios, secundarios y terciarios.<sup>66, 69, 70</sup> (Figura 3.2)

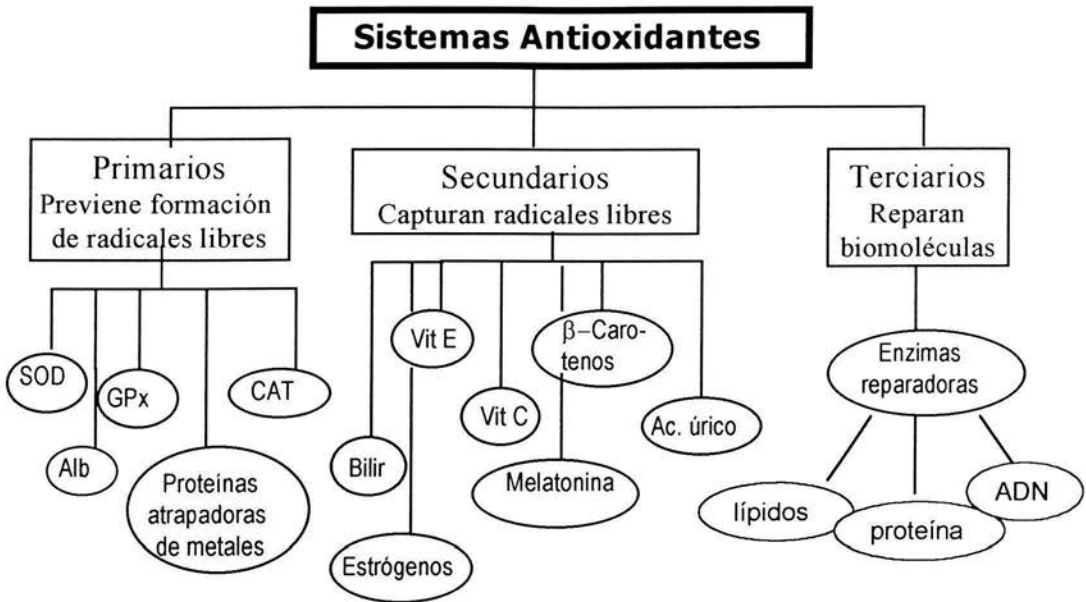


Fig. 3.2 Clasificación de los sistemas antioxidantes

En caso de que el sistema de defensa sea incapaz de contrarrestar la generación y acción de las EROs se da el estrés oxidativo, el cual se define como un desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno o factores prooxidantes y el sistema antioxidante, en favor de los primeros. Ha sido ampliamente asociado al proceso de envejecimiento y al desarrollo de enfermedades o sus complicaciones como sucede en la diabetes mellitus.<sup>71-73</sup>

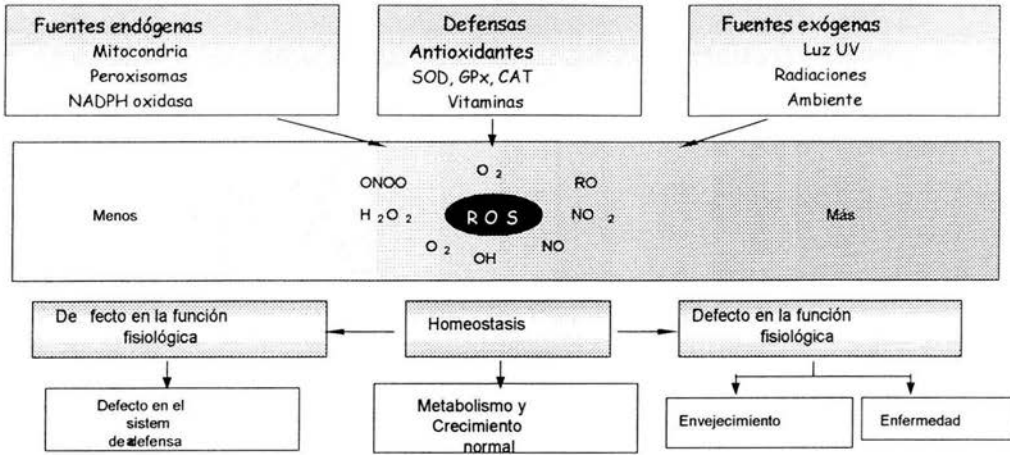


Fig.3.3 Estrés oxidativo,homeostasis y enfermedad, (Tomado de Finkel v Holbrook 2000)

El EOX entonces, es un proceso que explica el envejecimiento pero además se ha vinculado con el desarrollo de complicaciones en algunas enfermedades, aunque no se trate de enfermedades en adultos mayores. Algunos autores señalan que debe medirse en los pacientes diabéticos ya que posiblemente sea útil como marcador de descontrol, de ahí la importancia de incluir su medición en este estudio.<sup>73-74</sup>

### 3.6. DIABETES MELLITUS Y ENVEJECIMIENTO

La diabetes mellitus es una enfermedad sistémica, crónica degenerativa, de carácter heterogéneo con grados variables de predisposición hereditaria y con participación de diversos factores ambientales y que se caracteriza por hiperglucemia crónica debido a la deficiencia en la producción o acción de la insulina, lo que afecta al metabolismo intermedio de los carbohidratos, proteínas y grasas. Entre los AM el tipo más frecuente es el llamado tipo 2, en el cual hay capacidad residual de secreción de insulina pero los niveles no superan la resistencia a la insulina existente y se da la hiperglucemia.<sup>75</sup>

En cuanto a su frecuencia entre la población mexicana, la Encuesta Nacional de Salud (ENSA) 2000 detectó una prevalencia de 7.5% en adultos de 20 años y más, observando mayor prevalencia entre los sujetos de 70 a 79 años y a partir de la quinta década la prevalencia es significativamente mayor en mujeres. Por otro lado, en el 2001 la diabetes mellitus fue reportada como la primer causa de muerte en la población general, es además la causa más importante de amputación de miembros inferiores de origen no traumático así como de otras complicaciones como retinopatía e insuficiencia renal, siendo generadora de costos económicos altos asociados al tratamiento y las complicaciones.<sup>75-76</sup>

En lo que se refiere a la investigación se han desarrollado diversas líneas que pretenden explicar los mecanismos fisiopatológicos de esta enfermedad y sus complicaciones. Durante el envejecimiento se da intolerancia a la glucosa y se ha propuesto que es una condición de inicio de esta enfermedad. La tolerancia a la glucosa se determina por el balance entre la secreción de insulina y su acción en los diferentes órganos. Estudios recientes han señalado que la resistencia periférica a la acción de la insulina es lo que provoca la intolerancia a la glucosa. La hiperinsulinemia es una alteración que se ha asociado también a la obesidad, la cual también se presenta en la diabetes mellitus.<sup>2</sup>

Por otro lado, en reportes recientes se ha propuesto concretamente a la hiperleptinemia como una alteración metabólica que propicia el desarrollo de la DM.

### 3.6.1 Diabetes mellitus e hiperleptinemia

Se ha vinculado a la leptina con la DM por su estrecha relación con la adiposidad, así mismo, se ha demostrado que la leptina actúa en diversos y complejos mecanismos cuya alteración propicia no sólo la DM, sino también otras enfermedades crónico-degenerativas de interés gerontológico.<sup>77-79</sup>

La leptina afecta a la homeostasis de la glucosa, el metabolismo de los lípidos, la asimilación de glucosa por el músculo esquelético, su liberación y almacenamiento en hígado y también en el tejido adiposo, además de interferir en el metabolismo de la insulina afectando su secreción y sensibilidad de los tejidos.

80-81

Se ha determinado que la leptina afecta la homeostasis de la glucosa ya que existe respuesta a la administración periférica y central de esta hormona; en estudios realizados en ratas se ha observado que la leptina administrada por vía subcutánea reduce los niveles plasmáticos de glucosa e insulina sin afectar el peso corporal, otros estudios señalan que los efectos observados in vivo tras la administración de leptina son mediados desde el sistema nervioso central, ya que después de inyectar leptina directamente vía intracerebroventricular se aumenta la ingesta de glucosa estimulada por insulina; si se consideran estas evidencias y que la administración de leptina en los modelos animales diabéticos y en los humanos obesos deficientes de leptina corrige la glucemia y la sensibilidad a la insulina es posible suponer que en el caso de ausencia o resistencia a la leptina se propiciará la DM.<sup>80,82,83</sup>

Por otro lado, el músculo esquelético, el tejido adiposo y el hígado como tejidos blanco a la insulina en el proceso de regulación del metabolismo de la glucosa resultan clave pues son susceptibles al efecto periférico de la leptina debido a que también presentan receptores para esta hormona. En el caso del músculo esquelético estudios *in vivo* e *in vitro* han demostrado que la leptina incrementa la ingesta de glucosa además de que opone los efectos glucogénicos y lipogénicos de la insulina e incrementa la oxidación de sustratos.<sup>84-85</sup>

Estudios en tejidos celulares en el hígado han mostrado que la leptina atenúa algunas actividades inducidas por la insulina, como la fosforilación de tirosina, entre otras que en general llevan a la disminución de la gluconeogénesis.<sup>80</sup>

En el tejido adiposo de ratas se ha observado que la leptina disminuye la sensibilidad a la insulina y la ingesta de glucosa, otros estudios sugieren que la exposición crónica aparentemente promueve la degradación de glucosa y ácidos grasos previniendo la acumulación de triglicéridos y el subsecuente desarrollo de resistencia a la insulina y diabetes lipotóxica, esto cuando la leptina actúa de manera normal, es decir sin que haya resistencia a la leptina, en caso de resistencia se observaría el efecto contrario.<sup>86</sup>

Como se señaló anteriormente la leptina afecta el metabolismo y secreción de la insulina inhibiendo directamente su liberación al actuar sobre las células beta del páncreas. En este sentido, estudios *in vitro* muestran evidencia de que existe un eje adipo-insular en el que la leptina representa una señal de retroalimentación negativa desde el tejido adiposo hacia el páncreas. Además de que inhibe la secreción de insulina estimulada por glucosa ya que la leptina activa los canales de ATP sensibles a potasio, éstos se cierran alterando el flujo de calcio regulando así la secreción de insulina desde los gránulos. Si falla esta inhibición de la leptina sobre la secreción de insulina porque exista resistencia a la

leptina en las células beta del páncreas en sujetos obesos, el resultado puede ser hiperinsulinemia con el subsecuente riesgo de desarrollo de DM.<sup>80,87,88</sup>

La leptina y la insulina, además comparten varias vías de señalización celular lo que hace posible la existencia de un efecto cruzado entre estas dos hormonas. Ambas tiene actividad a través de la PI3-cinasa y las proteínas SOC-3 (entre otras) y lo importante es que por medio de estas ejercen actividades como la lipogénesis y la síntesis de glucógeno, aunado a esto se ha reportado que existe un efecto de retroalimentación negativa entre ambas hormonas y por el hecho de que comparten vías de señalización el exceso o ausencia de una de las dos puede generar resistencia hacia la otra.<sup>80</sup>

Por todo lo mencionado es importante considerar a la hiperleptinemia en este estudio, ya que es una alteración metabólica que se da en la mayoría de los AM y como ya se mencionó tiene un papel muy importante en la diabetes mellitus.

### 3.6.2. Estrés oxidativo e inflamación en diabetes mellitus

En lo que se refiere a la investigación en diabetes se han desarrollado diversas líneas que pretenden explicar sus mecanismos fisiopatológicos y complicaciones. Diversos reportes científicos han señalado a la hiperglucemia crónica como la condición responsable del progreso de las complicaciones del paciente diabético, ya que se ha vinculado con el desarrollo de procesos como la glucosilación no enzimática de proteínas, el estrés oxidativo, el proceso de inflamación crónica (PIC) y la hiperleptinemia en el paciente diabético.<sup>77,80,81,86,89,90</sup>

Entre los principales efectos de la hiperglucemia está la glucosilación no enzimática de proteínas o reacción de Maillard también llamada glicatación, la cual en sus inicios se estudió por su aplicación a la industria de los alimentos y

tomó relevancia fisiológica cuando se descubrieron las moléculas de hemoglobina glucosilada en la sangre de individuos sanos y el aumento de su proporción en sujetos diabéticos.<sup>91</sup> Desde el punto de vista químico, la glucosilación se define como la reacción de grupos amino primarios de aminoácidos, péptidos y proteínas con el grupo carbonilo de los azúcares reductores. Esta reacción se da en tres etapas; inicialmente se produce la asociación del azúcar con la proteína formando un compuesto que se denomina base de Schiff, cuya estructura se reordena hacia una forma más estable llamada producto de Amadori, éste sufre una serie de complejas transformaciones que llevan a la formación final de compuestos generalmente coloreados o fluorescentes. En condiciones fisiológicas la aparición de estos compuestos está determinada por la concentración de azúcares y por el tiempo de exposición de la proteína a los mismos. En las proteínas de recambio rápido el proceso no supera las etapas iniciales donde las reacciones son reversibles (base de Schiff y producto de Amadori), mientras que las de vida media larga llegan a formar los productos finales de glucosilación avanzada (AGE's, del inglés *Advanced Glycosylation End-products*) o productos avanzados de *Maillard*, siendo los principales la carboximetil-lisina, la pentosidina y la pirralina.<sup>92</sup> (Fig.3.4)

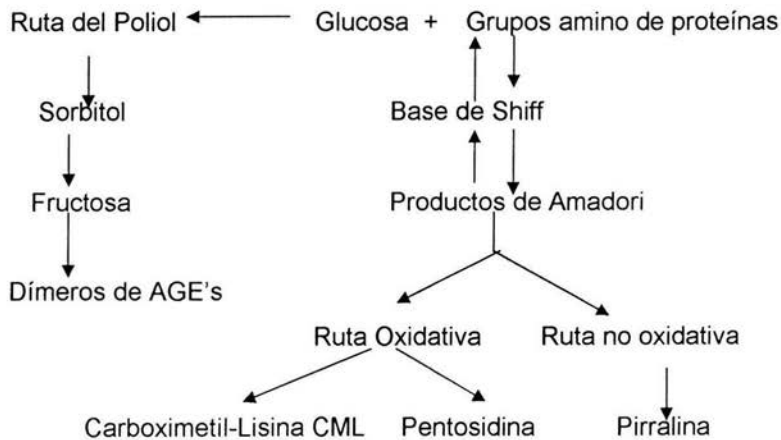


Fig. 3.4. Formación de productos finales de glucosilación avanzada.



Estudios *in vitro* han mostrado que la glucosilación afecta la actividad biológica de las proteínas. Al respecto, los diabéticos, donde se reúnen las condiciones necesarias para la formación de AGE's como consecuencia de la hiperglucemia crónica, se ha observado que los AGE's están vinculados con el desarrollo de patologías por tres mecanismos generales: (1) la modificación de proteínas estructurales que se encuentra fuera de la célula, (2) el desencadenamiento de procesos intracelulares por unión a receptores extracelulares y (3) alteración de las proteínas intracelulares. En este sentido, la unión de los AGE's a receptores específicos, como los de las gammaglobulinas, en la superficie celular de monocitos, macrófagos y células endoteliales desencadena la generación de radicales libres de oxígeno que modulan la función celular induciendo procesos como la inflamación además del daño que genera el EOX.<sup>73,77,89,92</sup>

La hiperglucemia crónica, además tiene por sí misma efecto nocivo sobre las enzimas antioxidantes, superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa, favoreciendo el estrés oxidativo. El mecanismo propuesto ha sido la auto-oxidación de la glucosa que genera cetoaldehídos los cuales promueven la generación de radicales libres.<sup>93</sup>

Existen abundantes evidencias respecto a la relación entre la diabetes y el estrés oxidativo, se ha señalado por diversos autores la relación entre los niveles altos de lipoperóxidos y los niveles bajos de las enzimas antioxidantes en los pacientes con diabetes mellitus.<sup>74,94-96</sup> Además, se ha reportado que los ERO's generados en la mitocondria reducen la secreción de insulina por las células beta del páncreas.<sup>97</sup>

Asimismo, se ha señalado que el EOX favorece las complicaciones en el paciente diabético ya que genera endurecimiento de las arterias propiciando micro y macroangiopatías,<sup>73,91-95,97</sup>

La inflamación crónica es otra alteración que se ha reportado en el paciente diabético y en el AM, la cual favorece el efecto de los AGE's sobre la células del sistema inmune, incluidos los linfocitos T y los macrófagos, esto resulta en un incremento en factores proinflamatorios como las interleucinas 1 y 6 además de alteración del Factor de Necrosis Tumoral alfa y la proteína C reactiva, los cuales además se han asociado con el estrés oxidativo, el índice de masa corporal, la resistencia a la insulina y la estimulación de la producción de leptina.<sup>95-101</sup>

Además de esto e independientemente de la DM, la hiperleptinemia ha sido vinculada con el EOX, la inflamación y los AGE's, se ha señalado que induce la producción de la enzima antioxidante superóxido dismutasa mitocondrial, la expresión quimiotáctica de los monocitos, EOX en células endoteliales humanas, correlaciona tanto con el EOX, como con los marcadores de inflamación en pacientes con cáncer, correlaciona con los AGE's en pacientes diabéticos con hemodiálisis, además de tener relación con las citocinas en la caquexia y el EOX inducido por alcohol en ratas. Todo esto es muy importante ya que como ya se mencionó la hiperleptinemia es una alteración de alta frecuencia en el envejecimiento, independientemente de que se padezca alguna enfermedad crónico-degenerativa.<sup>47,74,78,79,102-103</sup>

Como se puede observar el envejecimiento se acompaña de un proceso inflamatorio crónico y mayor EOX, propiciando una disminución de la capacidad del organismo para mantener la homeostasis, cuyas alteraciones son análogas a los mecanismos fisiopatológicos que se presentan en la DM tipo2, de ahí que esta enfermedad ha sido propuesta como un modelo de envejecimiento prematuro o acelerado, sin embargo las evidencias científicas no son del todo concluyentes, de ahí que la finalidad del presente estudio fue evaluar la influencia del envejecimiento sobre los niveles séricos de leptina, proteína C reactiva y EOX en sujetos con DM tipo2.

#### 4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El proceso de envejecimiento es un evento inevitable, intrínseco e individualizado que se caracteriza por la disminución de la capacidad de la respuesta homeostática, el comprender los mecanismos por los cuales se da ha requerido de ardua investigación y aún así no se tienen conocimientos contundentes. Se ha reportado que cursa con una variedad de alteraciones y procesos como la inflamación, el estrés oxidativo y la hiperleptinemia. Por otro lado, investigaciones recientes han señalado que la diabetes mellitus implica cambios que asemejan al envejecimiento, sin embargo los conocimientos al respecto no son del todo concluyentes, por lo cual basándonos en las evidencias nos planteamos la siguiente pregunta:

¿Cuál es la influencia del envejecimiento sobre los niveles de leptina, el EOx y la Proteína C reactiva en sujetos con DM2?

## 5. HIPÓTESIS

Considerando las evidencias científicas respecto a que el envejecimiento y la DM tipo2 cursan con un proceso inflamatorio crónico y EOx, suponemos que los adultos mayores con DM tipo2 presentarán mayor EOx, niveles séricos de leptina y PCR que los adultos jóvenes diabéticos.

## **6. OBJETIVO**

Determinar la influencia del proceso de envejecimiento sobre los niveles séricos de leptina, proteína C reactiva y los marcadores del estrés oxidativo, en pacientes con DM tipo2.

## 7. MATERIAL Y MÉTODOS

### 7.1 Población y diseño

Se realizó un estudio observacional, prolectivo, transversal y comparativo entre dos grupos de sujetos, 50 adultos mayores con promedio de edad  $68\pm 7$  años y 47 adultos jóvenes con edad promedio de  $50\pm 5$  años sin importar el género, ni lugar de residencia; en ambos grupos los sujetos tenían diagnóstico clínico de diabetes mellitus tipo 2.

### 7.2. Variables

Independiente

- Envejecimiento (medido a través de la edad)

Dependientes:

- Niveles séricos de leptina.
- Niveles séricos de PCR.
- Niveles séricos de los marcadores de EOx: SOD, GPx, capacidad sérica antioxidante total y lipoperóxidos.
- Niveles de hemoglobina glucosilada.
- Estrés oxidativo: Positivo si los lipoperóxidos  $\geq 0.340 \mu\text{mol/L}$  y existe alguna deficiencia del sistema antioxidante.

## OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

VARIABLES	DEFINICION	NIVEL DE MEDICION	CATEGORÍA
Envejecimiento	Proceso caracterizado por disminución de la capacidad de respuesta homeostática medido a través de la edad.	Cualitativa nominal	Adulto joven 22 a 59 años Adulto mayor $\geq 60$ años
Leptina	Niveles séricos de leptina	Cuantitativa continua	ng/mL
Hiperleptinemia	Niveles superiores a la referencia	Cualitativa nominal	Presente o ausente Mujeres $> 27$ ng/mL Hombres $> 9.4$ ng/mL
Proteína C reactiva	Concentración sérica de PCR	Cuantitativa discreta	mg/L
Hemoglobina glucosilada	% de hemoglobina glucosilada en eritrocitos	Cuantitativa continua	%
Descompensación	Falla del control de la DM medida por el % de HbA1c.	Cualitativa nominal	Positivo o negativo Positivo si: $> 8\%$
Lipoperóxidos	Concentración plasmática de LPO.	Cuantitativa continua	$\mu\text{mol/L}$

VARIABLES	DEFINICION	NIVEL DE MEDICION	CATEGORÍA
Superóxido Dismutasa	Actividad enzimática medida en eritrocitos	Cuantitativa continua	U/mL
Glutación peroxidasa	Actividad enzimática medida en eritrocitos	Cuantitativa continua	U/L
Capacidad antioxidante total	Capacidad antioxidante medida en suero	Cuantitativa continua	mmol/L
Estrés oxidativo	Desequilibrio entre sistema oxidante y antioxidante medido por los niveles de LPO y el sistema antioxidante	Cualitativa nominal	Positivo si: LPO $\geq$ 0.340 $\mu$ mol/L y existe alguna deficiencia en el sistema antioxidante

### 7.3. Técnicas

Las técnicas que se utilizaron fueron las siguientes:

- 7.3.1. Historia clínica geriátrica completa con estudios de laboratorio y gabinete acordes al diagnóstico.



### 7.3.2. Mediciones antropométricas

Las medidas antropométricas fueron obtenidas siguiendo un protocolo estandarizado:

- **Peso:** las personas fueron pesadas con la menor cantidad de ropa, (con una bata clínica) en una báscula calibrada marca Torino.
- **Estatura:** los pacientes se colocaron con los talones juntos, glúteos hombros y cabeza en contacto con el estadiómetro, y los ojos mirando al frente y el plano de Frankfurt paralelo al suelo.
- **Índice de masa corporal:** se obtuvo a través de la razón peso dividido entre la estatura al cuadrado ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ). Como criterio de descompensación diabética se consideraron valores  $\geq 27$ .
- **Cintura:** se midió la circunferencia de la cintura a nivel de la cicatriz umbilical, utilizando una cinta métrica de asbesto sin hacer ninguna presión sobre el cuerpo.
- **Cadera:** Se determinó midiendo la parte más prominente de los glúteos, utilizando una cinta métrica de asbesto.
- **Índice cintura-cadera:** se obtuvo al dividir el valor obtenido de la circunferencia de la cintura entre la circunferencia de la cadera.

### 7.3.3 Presión Arterial

La presión arterial se tomó siguiendo el método establecido en el apéndice B de la NOM-030-SSA2-1999 para la prevención, tratamiento y control de la hipertensión arterial.<sup>104</sup> La presión arterial se determinó con el paciente sentado con un buen soporte para la espalda, con el brazo descubierto y flexionado a la altura del corazón. Se utilizó un esfigmomanómetro mercurial, el observador se situó de manera que podía ver el menisco de la columna de mercurio, se colocó el brazalete situando el mango sobre la arteria humoral y mientras se palpa la arteria

humoral se infla rápidamente el mango hasta que le pulso desaparece a fin de determinar por palpación la tensión arterial sistólica (TAS), se desinfla nuevamente el mango y se coloca la cápsula del estetoscopio sobre la arteria humoral, se infla rápidamente el mango 30 o 40 mm Hg por arriba del nivel palpatorio de la presión sistólica, se desinfla a una velocidad de 2 mm Hg/seg. La aparición del primer ruido de Korotkoff marca el nivel de la tensión arterial sistólica (TAS) y el quinto la tensión arterial diastólica (TAD).

#### 7.3.4. Pruebas bioquímicas

A los sujetos participantes en el estudio se les tomaron muestras sanguíneas por venopunción, las cuales fueron obtenidas entre las 8:00 y 9:00 h. con ayuno previo de 8h, en tubos al vacío sin anticoagulante para las determinaciones bioquímicas (glucosa, perfil lipídico, perfil renal insulina y leptina), con EDTA disódico para la biometría hemática y la hemoglobina glucosilada (Beckton-Dickinson, México) y con heparina para las pruebas de estrés oxidativo. Para la determinación de los parámetros bioquímicos se centrifugaron las muestras coaguladas a 3500 rpm durante 10 min. y se separó el suero. Las determinaciones bioquímicas (glucosa, perfil renal y perfil lipídico) se realizaron utilizando un autoanализador Eclipse Merck Co. Para la hemoglobina glucosilada se separaron 100 µL de sangre anticoagulada con EDTA y el resto se utilizó para la biometría hemática. Para las pruebas de EOx, se separaron 600 µL de sangre total anticoagulada para SOD, 100 µL para GPx, 100 µL de plasma heparinizado para capacidad antioxidante total y 1000 µL para lipoperóxidos.

Las técnicas utilizadas fueron las siguientes:

- Glucosa: Estuche comercial para la determinación de glucosa (método de la glucosa-oxidasa, Randox GL 2614). La glucosa se determina colorimétricamente después de una oxidación enzimática en presencia de

glucosa oxidasa. Muestra y patrón se mezclan e incuban durante 10 min. a 15-25°C y se lee la absorbancia a 500 nm frente a blanco de reactivo.

- Hemoglobina glucosilada: Estuche comercial para la determinación de hemoglobina glucosilada (Randox HA 3830a). El primer paso involucra el pretratamiento de la muestra de sangre total, se lisan las células rojas y se provoca la hidrólisis de la hemoglobina por la acción de una enzima proteasa, posteriormente la presencia de HbA1c se mide por aglutinación en látex, compitiendo la glucohemoglobina con anticuerpos monoclonales HbA1c. Como valor de corte para descompensación diabética se utilizó el porcentaje de hemoglobina glucosilada mayor a 8%.
- Colesterol: Estuche comercial para la determinación de colesterol (método enzimático de punto final) CHOD-PAP (Randox Laboratories Ltd; UK, CH 201). El colesterol se determina colorimétricamente después de hidrólisis enzimática y oxidación. Las muestras del blanco, patrón y muestra se agitan e incuban con el reactivo de color 10 minutos de 20 a 25°C o 5 min. a 37 °C, y se mide la absorbancia a 546 nm antes de 60 min. Se consideró como criterio de descompensación valores séricos de colesterol > 240 mg/dL.
- Triglicéridos: Estuche comercial para la determinación de triglicéridos Randox GPO-PAP (Randox Laboratories Ltd, UK, TR212). Se determina tras hidrólisis enzimática con lipasas. El blanco, patrón y muestra se agitan e incuban con el reactivo de color de 10 a 15 min. a 20-25° o 5 min. a 37°C, y se mide la absorbancia a 500 nm antes de 60 min. Como criterio de descompensación se utilizó valor de > 200 mg/dL.
- HDL-Colesterol: Reactivo precipitante -colesterol catálogo Ch204 (paquete suplementario para colesterol CHOD-PAP) (Randox Laboratories Ltd, UK).

---

---

La determinación se fundamenta en que las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y muy baja densidad (VLDL) y las fracciones de quilomicrones se precipitan cuantitativamente al añadir ácido fosfotúngstico en presencia de  $Mg^{2+}$ , la fracción HDL se determina posteriormente por el método enzimático de punto final utilizado para colesterol total. Se tomó como criterio de descompensación valores séricos de HDL menores a 35 mg/dL.

- Urea: Estuche comercial para la determinación de urea (Randox Laboratories Ltd, UK UR 107). El método utilizado fue ureasa-Berthelot modificado. Iones amonio producidos por acción enzimática reaccionan con salicilato e hipoclorito sódico para formar un complejo verde que se lee a 600 nm. Muestras y patrón se mezclan con ureasa por 5 min. a 25°C y posteriormente con hipoclorito sódico, se leen contra el blanco de reactivo tras incubar 10 min.
- Acido úrico: Estuche comercial para la determinación de ácido úrico. Método enzimático colorimétrico (Randox Laboratories Ltd, UK UA 230). El ácido úrico se convierte, catalizado por uricasa en alantoína y peróxido de hidrógeno, el cual a su vez reacciona con el reactivo de color para producir un compuesto de quinoneimina rojo violeta que se lee a 520 nm. Muestras y patrón se mezclan e incuban con el reactivo de color durante 15 min. a 25 °C y se mide la absorbancia frente a reactivo blanco.
- Creatinina: Estuche comercial para la determinación de creatinina método colorimétrico (Randox Laboratories Ltd, UK CR510). La creatinina en solución alcalina reacciona con ácido pícrico para formar un complejo coloreado, en cantidad proporcional a la concentración de creatinina. Las muestras y el patrón se mezclan con el reactivo de color y se lee la absorbancia  $A_1$  al cabo de 30 segundos y exactamente después de 2 min. se lee la absorbancia  $A_2$ , se obtiene la diferencia y se calcula comparando con el estándar.

- La biimetría hemática se determinó en forma manual; se empleó el procedimiento con cianometahemoglobina para la concentración de hemoglobina, el micrométodo para la determinación del hematocrito y la cuenta de leucocitos se realizó en una cámara de Newbauer.
- Proteína C Reactiva (PCR): se utilizó el estuche comercial de (Randox Laboratories Ltd, UK, CP2488). El reactivo PCR contiene partículas de látex recubiertas con anticuerpos que reconocen la PCR humana. Cuando el reactivo se mezcla con suero que contiene PCR a un nivel mayor de 6 mg/L, las partículas se aglutinan, esto se interpreta como prueba positiva. Se coloca una gota de látex (50  $\mu$ L) sobre una placa oscura, a un lado se colocan 50  $\mu$ L de la muestra y se mezcla en forma circular, y se lee si hay o no aglutinación. En caso de que sea positivo, se realizan diluciones, (1+1, 1+2, ..., 1+n), con amortiguador, hasta que no haya más aglutinación. Se reporta en múltiplos de 6 mg/L.
- Leptina: Se utilizó el estuche para la determinación de leptina método inmunoradiométrico (IRMA) (Diagnostic Systems Laboratories, Inc. Webster, Texas DSL-23100).  
Principio: El método emplea un principio de dos sitios inmunoradiométricos (IRMA). El IRMA es una determinación no competitiva en la cual el analito a ser medido es atrapado entre dos anticuerpos. El primero de estos se encuentra inmovilizado en el interior de las paredes de los tubos. El otro anticuerpo se encuentra radiomarcado ( $I^{25}$ ) para su detección. El analito presente en las muestras, estándares y controles es ligado a ambos anticuerpos para formar un complejo de "sandwich". Los restos no ligados son eliminados por decantación y lavado de tubos.

Muestra: Suero sanguíneo

Procedimiento:

1. Se etiquetan dos tubos comunes (sin anticuerpo) para las cuentas totales. Se marcan y ordenan por duplicado los tubos cubiertos con anticuerpo antileptina (proporcionados en el estuche) para los estándares, controles y muestras.
2. Se agregan 100  $\mu\text{L}$  de los estándares, controles y muestras en el fondo de los tubos con anticuerpo previamente marcados.
3. Inmediatamente después se agregan 200  $\mu\text{L}$  de reactivo antileptina marcado con  $\text{I}^{125}$  a cada tubo.
4. Se agitan cuidadosamente por espacio de 1 a 2 segundos.
5. Se incuban todos los tubos entre 18-24 horas a temperatura ambiente.
6. Decantar todos los tubos, excepto los de cuenta total, por inversión simultanea en un recipiente para desechos radiactivos. Escurrir los tubos perfectamente sobre material absorbente para facilitar un completo vaciado y posteriormente se dejan sobre material absorbente de 1-2 min. Secar los tubos para eliminar algunas gotas restantes adheridas sobre el borde antes de regresarlos a su posición original.
7. Se agregan 3 mL de solución de lavado a cada tubo, excepto a los tubos de cuenta total, empleando para ello un pipetor.
8. Se decantan todos los tubos, excepto los de cuenta total.
9. Repetir los pasos 7 y 8 dos veces más (para un total de 3 lavados).
10. Se colocan todos los tubos en un contador gamma (Cobra II Auto-Gamma, Packard Canberra Company) para su lectura.

Se consideró hiperleptinemia en los hombres cuando tenían valores  $> 9.15$  ng/mL y en las mujeres  $> 27.6$  ng/mL.

- Insulina

Se utilizó el estuche para la determinación de insulina método radioinmunoensayo (RIA), Insulin-CT (CIS Bio International).

Principio: El principio de la determinación está basado en la competencia entre la insulina marcada ( $I^{125}$ ) y la contenida tanto en los estándares como en los especímenes que van a ser cuantificados, por un número fijo y limitado de sitios de unión a anticuerpos. Después de un periodo de incubación, la cantidad de insulina marcada unida al anticuerpo es inversamente proporcional a la cantidad de insulina no marcada presente en la muestra. La separación del antígeno libre y ligado es fácil y rápidamente lograda por el empleo de un doble sistema de anticuerpos.

Muestra: Suero sanguíneo.

Procedimiento: Se realiza de acuerdo a la siguiente carta de flujo.

Tubos	Estándares Controles Muestras $\mu$ L	$I^{125}$ Insulina (*) mL		Agua Destilada  mL	
T	-	1		-	
Estándares	100	1	Mezclar  Tapar los tubos	4	Aspirar el líquido
Controles y muestras	100	1	Incubar 18h-20h de 18-25°C  Aspirar el líquido	4	Contar

\* Después reconstituir con 5 mL de agua destilada y diluir en solución amortiguadora.

Se consideraron valores altos de insulina los superiores a 20 $\mu$ UI/mL. Para determinar la resistencia a la insulina RI, se utilizó el cálculo de HOMA IR determinado por la fórmula propuesta por Matthews et al.<sup>105</sup>:

$$IR = (\text{Insulina en ayunas en } \mu\text{U/mL} \times \text{glucosa en ayunas en mM})/22.5$$

### 7.3.5. Marcadores de Estrés Oxidativo

- **Lipoperóxidos:** Esta técnica utiliza el malonaldehído (MDA) como marcador de lipoperoxidación, mediante una reacción con ácido tiobarbitúrico (TBA), el cual forma un pigmento de color rosa que se mide a 535nm. La formación del complejo TBA-MDA por eliminación de oxígeno se ve favorecida por la adición de butiril-hidroxitolueno (BHT).

El método utilizado se basa en el análisis realizado por Jentzsch en 1996 en relación al malondialdehído en fluidos corporales humano.<sup>105</sup>

Procedimiento:

Se colocaron 400  $\mu$ L de plasma heparinizado en tubos de vidrio y se mezclaron con 50  $\mu$ L de BHT 2 mM y 400  $\mu$ L de ácido ortofosfórico 0.2 mol/L, y se agitó en vórtex por 10 seg.

Posteriormente se adicionaron 50  $\mu$ L de TBA y se agitó nuevamente, se incubaron en baños de agua a 90 °C durante 45 minutos, transcurrido este tiempo se colocaron los tubos en hielo para detener la reacción.

Ya a temperatura ambiente, se les agregó a cada tubo 1200  $\mu$ L de n-butanol y 100  $\mu$ L de solución saturada de cloruro de sodio. Se agitaron los tubos en vortex durante un minuto y posteriormente se centrifugaron a 5000 rpm durante 1 min. Se tomaron 600  $\mu$ L como mínimo del sobrenadante y se colocaron en otros tubos de vidrio, de los cuales se tomaron para leerse en el espectrofotómetro Shimadzu. Se leyeron contra blanco de butanol a 535 y 572 nm para hacer una corrección de aductos coloridos que se puedan formar durante la reacción y se registra el delta. Para hacer los cálculos se interpola las absorbancias en la curva estándar que se prepara



con diferentes concentraciones de la sustancia patrón que es el tetrametoxipropeno (TMP).

Valores de corte: Normal < 0.340  $\mu\text{mol/L}$ , alto > 0.340  $\mu\text{mol/L}$ .

- Superóxido Dismutasa (SOD): En la cuantificación de la actividad de SOD se empleó el equipo comercial Ransod superóxido dismutasa (Randox Laboratorios Ltd, UK) que se basa en el empleo de xantina y xantinaoxidasa (XOD) para formar radicales superóxido.



Los radicales superóxido formados reaccionan con cloruro de 2-(4-yodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolio (I.N.T.) para formar un colorante formazán rojo.



Se mide la actividad de la superóxido dismutasa por el grado de inhibición de la reacción:

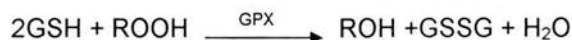


Procedimiento: Se tomaron 500  $\mu\text{L}$  de la muestra de sangre total y se lavaron los eritrocitos 3 veces con 3 mL de solución de NaCl al 0.9%, centrifugando durante 10 min. a 3000 rpm después de cada lavado.

A el botón de eritocitos lavados, se adicionaron 2 mL de agua bidestilada fría, se mezcló y dejó reposar durante 15 minutos a 4°C. Del lisado se tomaron 100  $\mu\text{L}$  y se diluyeron con 1.9 mL de tampón fosfato 0.01 mmol/L pH 7.0. Se pipetearon 0.05mL de la muestra diluida y se adicionaron 1.7 mL

de sustrato mixto (xantina 0.05 mmol/L, I.N.T. 0.025 mmol/L). Después de mezclar perfectamente se agregaron 0.25 mL de xantin oxidasa (xantin oxidasa 0.94 mmol/L). Se mezcló y se registró la absorbancia  $A_1$  al cabo de 30 segundos y se empezó a cronometrar el tiempo simultáneamente para leer la absorbancia final  $A_2$  al cabo de 3 min. frente a blanco de agua a una longitud de onda de 505 nm en un espectrofotómetro Shimadzu. Valores de corte: Normal:  $>170$  U/mL, bajo:  $\leq 170$  U/mL

- Glutación Peroxidasa (GPx): Para la cuantificación de la actividad de glutación peroxidasa se empleó el equipo comercial de Randox, Ransel glutación peroxidasa. Este método está basado en el trabajo de Plagia y Valentine. La glutación peroxidasa (GPx) cataliza la oxidación del Glutación (GSH) por el hidroperóxido de cumeno.



El glutación oxidado (GSSG) en presencia de glutación reductasa (GR) y NADPH es inmediatamente convertido en su forma reducida con una oxidación concomitante de NADPH en  $\text{NADP}^+$ . Se mide la disminución de la absorbancia a 340 nm.



Procedimiento: Se diluyeron 0.05 mL de sangre entera heparinizada en 1 mL de solución diluyente, provista por Randox; se incubó durante 5 min. para posteriormente añadir 1 mL de reactivo de Drabkin a doble concentración. Las muestras se analizaron en los siguientes 20 min.

Para el ensayo, se colocaron 0.02 mL de la muestra diluida, 1 mL de reactivo (glutación 4 mmol/L, glutación reductasa  $\geq 0.5$  U/L y NADPH 0.34mmol/L) y 0.04 mL de cumeno (hidroperóxido de cumeno 0.18 mmol/L).

Se mezcló y leyó la absorbancia inicial de la muestra y del reactivo blanco al cabo de un minuto y se empezó a cronometrar simultáneamente para leer de nuevo al cabo de 1 y 2 min. La cinética de esta reacción se lee a 340 nm.

Valores de Corte: Normal: > 5500 U/L, bajo: ≤ 5500 U/L.

- Capacidad sérica antioxidante total: Para la determinación de la capacidad antioxidante total se empleó un equipo comercial (Total antioxidant status, Randox Laboratories Ltd, UK). El análisis del estado de los antioxidantes totales, se trata de una prueba en donde se combinan la peroxidasa (metamioglobina) con peróxido de hidrógeno y ABTS (2,2'-azido-di etilbenzotiazolin sulfonato) para dar como resultado la formación del radical catión ABTS<sup>+</sup>. Este radical presenta una coloración verde azulada, la presencia de antioxidantes en la muestra produce una supresión de esta coloración, siendo ésta proporcional a la concentración de antioxidantes.

Procedimiento: Se pipetearon 20 μL de plasma y se adicionó 1 mL de cromógeno. Después de mezclar perfectamente se prosiguió a la lectura de la absorbancia inicial  $A_1$  a una longitud de onda de 600 nm. Se adicionaron 200 μL de sustrato, y posterior a la mezcla se empezó a cronometrar simultáneamente para leer la absorbancia  $A_2$  al cabo de exactamente tres minutos.

Valores de Corte: Normal: > 0.90 mmol/L, Bajo: ≤ 0.90 mmol/L.

#### 7.4. Diseño Estadístico

Los datos fueron analizados utilizando medidas descriptivas, promedio y desviación estándar (DE) para las variables cuantitativas y frecuencias relativas para las cualitativas. Como pruebas de comparación se utilizó t de Student para las variables cuantitativas y  $\chi^2$  para las cualitativas. Se calculó análisis de regresión lineal simple como prueba de asociación y regresión logística para el

cálculo de los riesgos con su respectivo intervalo de confianza al 95% (IC<sub>95%</sub>). Para todas las pruebas se consideró un valor de  $p < 0.05$  como significancia estadística. Los cálculos fueron realizados con el paquete estadístico SPSS V. 10.0.

## 8. RESULTADOS

La población de estudio fue estratificada por grupos edad, clasificándolos como adultos mayores ( $\geq 60$  años) y adultos jóvenes (25 a 59 años), así mismo los datos de cada grupo fueron analizados en relación a género.

En el cuadro 8.1 se presentan los resultados de mediciones bioquímicas, clínicas y antropométricas por grupo de edad, en el cual observamos que las concentraciones de HbA1c y LPO son significativamente más altas en los adultos jóvenes en comparación con los adultos mayores ( $p < 0.01$ ), así mismo, la actividad de la SOD fue significativamente mayor en los jóvenes que en los ancianos ( $p < 0.05$ ), y la concentración sérica de ácido úrico fue significativamente mayor en los ancianos que en los jóvenes ( $p < 0.05$ ). Los niveles séricos de leptina fueron más altos en mujeres jóvenes y hombres ancianos, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ ).

Por otro lado, respecto a la frecuencia de hiperleptinemia, y niveles bajos de SOD, GPx y AT no encontramos diferencias estadísticamente significativas por grupo de edad ( $p > 0.05$ ), no obstante el porcentaje de sujetos con sobrepeso fue significativamente mayor en el grupo de jóvenes ( $p < 0.01$ ), en los cuales también los niveles altos de LPO y HbA1c fueron más frecuentes igualmente con significancia estadística ( $p < 0.05$ ), mientras que en los adultos mayores fue mayor la frecuencia de resistencia a la insulina y positividad a PCR cuya diferencia fue estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) (cuadro 8.2).

Así mismo, el porcentaje de sujetos con HbA1c  $> 8\%$  fue significativamente mayor en el grupo de los jóvenes que en el de los de los ancianos ( $p < 0.05$ ), aunque el porcentaje de sujetos con resistencia a la insulina  $\geq 6.12$  y positividad a PCR fue mayor en el grupo de senectos.

---

---

Respecto a la relación entre la leptina y las variables vinculadas con la descompensación diabética, encontramos una correlación negativa estadísticamente significativa con los TG ( $r = -0.444$ ;  $p = 0.034$ ) y positiva con la insulina ( $r = 0.52$ ;  $p < 0.01$ ) en mujeres jóvenes (cuadro 8.3). Del mismo modo, en los adultos mayores en las mujeres se observaron correlaciones estadísticamente positivas con los TG ( $r = 0.43$ ;  $p = 0.013$ ), la insulina ( $r = 0.751$ ;  $p < 0.001$ ), resistencia a la insulina ( $r = 0.53$ ;  $p < 0.01$ ) y LPO ( $r = 0.40$ ;  $p < 0.05$ ) (cuadro 8.4).

Entre los factores de riesgo para descompensación diabética en adultos jóvenes encontramos la RI (RM=15; IC<sub>95%</sub>0.56-404.5,  $p = 0.105$ ) y actividad baja de SOD (RM=3.7; IC<sub>95%</sub>0.51-27.5,  $p = 0.195$ ), aunque no fueron estadísticamente significativos (cuadro 8.5). De la misma manera en adultos mayores se observaron como factores de riesgo la actividad baja de la SOD (RM=31.1; IC<sub>95%</sub> 1.01-982.9,  $p < 0.05$ ), los niveles altos de TG, (RM=17.9; IC<sub>95%</sub>0.42-771.5,  $p = 0.133$ ), insulina (RM=9.17; IC<sub>95%</sub>0.44-190.6;  $p = 0.152$ ), colesterol (RM=6.22; IC<sub>95%</sub>0.25-153.6;  $p = 0.264$ ), e IMC (RM=3.14; IC<sub>95%</sub>0.36-27.9;  $p = 0.304$ ) (cuadro 8.6).

En proporción, los AJ con descompensación diabética mostraron una mayor tendencia a valores altos de PCR, leptina, LPO y EOx. (Gráfica 8.1)

La edad considerada en el rango de 25-59 años se comportó como un factor de riesgo para descompensación diabética (RM=9.12; IC<sub>95%</sub> 2.23-37.3  $p = 0.002$ ) en el análisis multivariado (cuadro 8.7).

Cuadro 8.1 Parámetros bioquímicos, clínicos y antropométricos de los adultos jóvenes y mayores con DM2.

Parámetros	Adultos Jóvenes (n=47)	Adultos Mayores (n=89)
Edad	50.6± 5.3	68.4±7.3
Hemoglobina (g/dL)	15.3±1.4	14.8±1.6
Hematocrito (%)	47±4.4	46±5.2
Eritrocitos X10 <sup>6</sup> cel/mm <sup>3</sup>	5.19±0.44	5.23±0.71
Leucocitos cel/mm <sup>3</sup>	6458±1394	6193±1216
Glucosa (mg/dL)	145±41	161±64
Urea (mg/dL)	38±10	39±20
Ácido Úrico (mg/dL)	4.5±1.5	5.3±1.5*
Creatinina (mg/dL)	0.99±0.3	1.09±0.9
Colesterol (mg/dL)	229±41	220±50
Triglicéridos (mg/dL)	221±135	172±71*
HDL-Colesterol (mg/dL)	48±10	50±13
LDL-Colesterol (mg/dL)	137±40	135.5±45.3
Albúmina (mg/dL)	4.8±0.3	4.4±0.4†
HbA1c %	9.5±3.4	6.8±2.8†
Leptina (ng/mL)		
Mujeres	40±24	33±23
Hombres	13±8	20±13
Insulina µUI/mL	18.5±12.4	25.8±28
Resistencia Insulina	6.5±6	10.6±16
IMC (kg/m <sup>2</sup> )		
Mujeres	29.5±4.2	26.9±3.5
Hombres	27.8±3	27.3±3.9
ICC		
Mujeres	0.92±0.08	0.99±0.07
Hombres	0.99±0.04	1.02±0.04
Lipoperóxidos (µmol/L)	0.368±0.13	0.307±0.08‡
SOD*(U/mL)	174.7±6.8	170.6±10.7
GPx (U/L)	8427±3861	7619±3433
AT(mmol/L)	0.918±0.213	0.884±0.215
TAS (mmHg)	123±18	135±20*
TAD (mmHg)	80±9	78±9

HDL: Lipoproteínas de alta densidad, LDL: Lipoproteínas de baja densidad, IMC: Índice de masa corporal, ICC: Índice cintura cadera, HbA1c: hemoglobina glucosilada, SOD: Superóxido dismutasa, GPx: Glutación peroxidasa, AT: Capacidad antioxidante total, TAS: Tensión arterial sistólica, TAD: Tensión arterial diastólica. † de student 95% de confianza \*p<0.05, †p<0.0001, ‡p<0.01

Cuadro 8.2. Frecuencia de niveles anormales de leptina, lipoperóxidos, SOD; GPx, AT y otros posibles factores de riesgo para complicaciones en AM y AJ con DM2.

Variables	Adultos		Mayores	
	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje
Sobrepeso*	38	80	25	51†
ICC				
Hombres >1.0	10	46	11	73
Mujeres >0.8	21	91	29	97
Género (Mujeres)	24	51	32	64
Glucosa >140mg/dL	22	47	25	50
Colesterol >240mg/dL	18	38	18	36
TG >200 mg/dL	19	40	12	24
HDL-C <35mg/dL	3	6	6	12
HbA1c >8%	17	37	14	29‡
Leptina				
Mujeres >27	15	62	17	53
Hombres >9.4	15	65	12	67
PCR >6mg/L	11	23	23	46‡
Insulina >20mUI/mL	6	13	11	22
Resistencia a la Insulina $\geq 6.12$	16	34	30	60‡
LPO $\geq 0.340$ U/L	26	55	18	36
SOD $\leq 170$ U/mL	16	35	22	45
GPx $\leq 5500$ U/L	13	28	12	24
AT $\leq 0.90$ mmol/L	25	53	27	54

\*Jóvenes IMC  $\geq 25$ , Adultos mayores IMC  $\geq 27$  TG: Triglicéridos, HDL: Lipoproteínas de alta densidad, LDL: Lipoproteínas de baja densidad, IMC: Índice de masa corporal, ICC: Índice cintura cadera, HbA1c: hemoglobina glucosilada, PCR: Proteína C reactiva, LPO: lipoperóxidos, SOD: Superóxido dismutasa, GPx: Glutación peroxidasa, AT: Capacidad antioxidante total,  $\chi^2$  95% de confianza †  $p < 0.01$ , ‡  $p \dagger < 0.050$



Cuadro 8.3 Correlación simple entre los niveles de leptina con insulina, resistencia a la insulina, colesterol total, HDL, LDL, TG, LPO, SOD, GPx y AT en adultos jóvenes DM2.

## ADULTOS JÓVENES

Variables	MUJERES			HOMBRES		
	r	r <sup>2</sup>	p	r	r <sup>2</sup>	P
Glucosa	-0.275	0.075	0.204	-0.220	0.048	0.302
Colesterol	-0.397	0.158	0.610	0.035	0.001	0.872
TG	-0.444	0.197	0.034*	-0.207	0.043	0.332
HDL-C	0.148	0.022	0.500	0.108	0.012	0.617
LDL-C	-0.301	0.09	0.163	0.188	0.035	0.380
Insulina	0.525	0.276	0.01*	0.311	0.097	0.138
RI	0.318	0.101	0.139	0.309	0.095	0.142
ICC	0.260	0.068	0.243	0.180	0.032	0.401
PCR	0.133	0.018	0.546	-0.141	0.020	0.510
LPO	0.151	0.023	0.491	-0.394	0.156	0.057*
SOD	-0.112	.012	0.612	0.301	0.090	0.163
GPx	0.376	0.141	0.077	0.272	0.074	0.209
AT	0.161	0.026	0.462	-0.248	0.062	0.242
HbA1c	0.253	0.064	0.243	-0.203	0.041	0.340

TG: Triglicéridos, HDL: Lipoproteínas de alta densidad, LDL: Lipoproteínas de baja densidad, RI: Resistencia a la insulina, ICC: Índice cintura cadera, PCR: Proteína C reactiva, LPO: lipoperóxidos, SOD: Superóxido dismutasa, GPx: Glutación peroxidasa, AT: Capacidad antioxidante total, HbA1c: hemoglobina glucosilada.

Cuadro 8.4 Correlación simple entre los niveles de leptina con insulina, resistencia a la insulina, colesterol total, HDL, LDL, TG, LPO, SOD; GPx y AT en adultos mayores con DM2.

ADULTOS MAYORES						
Variables	MUJERES			HOMBRES		
	r	r <sup>2</sup>	p	r	r <sup>2</sup>	p
Glucosa	-0.174	.030	0.341	0.132	0.017	0.602
Colesterol	0.207	0.043	0.256	-0.045	0.002	0.828
TG	0.436	0.190	<b>0.013</b>	0.253	0.064	0.311
HDL-C	-0.171	0.029	0.350	-0.276	0.076	0.267
LDL-C	0.139	0.019	0.448	-0.06	0.004	0.812
Insulina	0.751	0.3564	<b>0.0001</b>	0.155	0.024	0.539
RI	0.537	0.289	<b>0.002</b>	0.173	0.030	0.493
ICC	0.163	0.026	0.038	0.055	0.003	0.839
PCR	0.136	0.019	0.457	0.019	0.000	0.940
LPO	0.409	0.167	<b>0.02</b>	0.047	0.002	0.852
SOD	-0.081	0.007	0.663	-0.248	0.062	0.320
GPx	0.012	0.000	0.946	0.084	0.007	0.749
AT	-0.119	0.014	0.517	0.212	0.045	0.398
HbA1c	0.026	0.381	0.253	0.276	0.076	0.267

Correlación simple, TG: Triglicéridos; HDL: Lipoproteínas de alta densidad, LDL: Lipoproteínas de baja densidad, RI: Resistencia a la insulina, ICC: Índice cintura cadera, PCR: Proteína C reactiva, , LPO: lipoperóxidos, SOD: Superóxido dismutasa, GPx: Glutatión peroxidasa, AT: Capacidad antioxidante total, HbA1c: hemoglobina glucosilada.

Cuadro 8.5 Factores de riesgo para descompensación diabética en adultos jóvenes.

Factor de riesgo	RM	IC 95%	Valor de p
Resistencia Insulina >6.21	15.12	0.56-404.5	0.105
Glucosa >140mg/dL	7.36	0.85-63.6	0.07
SOD <170 U/mL	3.7	0.51-27.5	0.195
LPO >0.340 U/L	2.18	0.35-13.52	0.401
Leptina *	1.84	0.20-16.6	0.584
PCR >6mg/L	1.81	0.18-17.86	0.612
TG >200mg/dL	1.77	0.22-13.8	0.588
AT <0.90 mmol/L	1.47	0.21-10.1	0.693
Colesterol >240mg/dL	1.35	0.21-8.69	0.752

Regresión logística,  $r^2=0.481$   $p=0.079$  \*Mujeres > 27 ng/mL, hombres >9.4 ng/mL

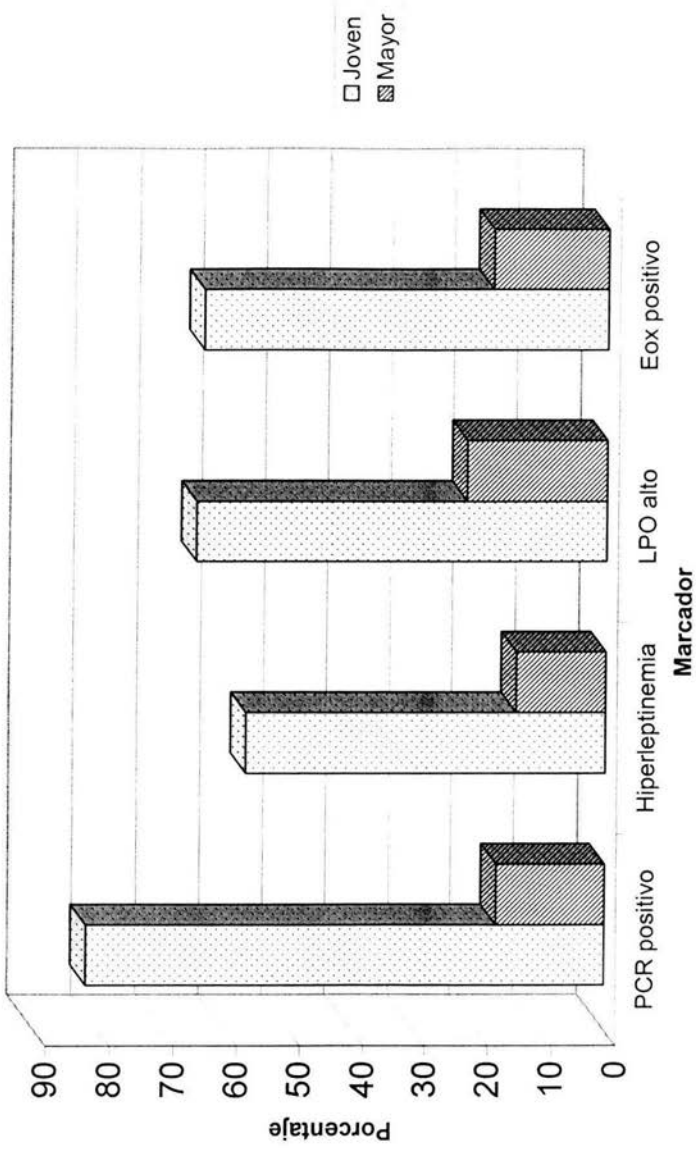
SOD: Superóxido dismutasa, LPO: lipoperóxidos, PCR: Proteína C reactiva, TG: Triglicéridos, AT: Capacidad antioxidante total.

Cuadro 8.6 Factores de riesgo para descompensación en adultos mayores

Factor de riesgo	RM	IC 95%	Valor de p
SOD <170 U/mL	31.52	1.01-982.9	0.049
TG >200 mg/dL	17.93	0.42-771.5	0.133
Glucosa >140 mg/dL	9.91	0.55-177.3	0.119
Insulina >20 $\mu$ UI/mL	9.17	0.44-190.6	0.152
Colesterol >240 mg/dL	6.22	0.25-153.6	0.264
IMC >27	3.14	0.36-27.9	0.304
LPO >0.340 U/L	0.11	0.01-2.0	0.138
PCR >6 mg/L	0.09	0.01-1.5	0.094
Leptina	0.012	0-0.69	0.033
AT <0.9 mmol/L	0.01	0-0.51	0.023

Regresión logística,  $r^2 = 0.535$   $p < 0.033$  SOD: Superóxido dismutasa, TG: Triglicéridos, IMC: Índice de masa corporal, LPO: lipoperóxidos, PCR: Proteína C reactiva, AT: Capacidad antioxidante total.

Gráfica 8.1. Marcadores de inflamación y oxidativos en sujetos con diabetes mellitus tipo 2 descompensada.



Cuadro 8.7 Factores de riesgo para descompensación, población total

Factor de riesgo	RM	IC 95%	P
Edad < 60 años	9.12	2.23-37.3	0.002
Glucosa > 140 mg/dL	7.11	1.57-32.3	0.011
SOD < 170 U/mL	3.45	0.92-12.96	0.066
TG >200 mg/dL	2.74	0.6-12.54	0.194
ICC	2.67	0.38-18.79	0.32
Insulina <6.21 $\mu$ UI/mL	1.97	0.29-13.5	0.489

Regresión logística,  $r^2=0.481$   $p = 0.003$ ; SOD: Superóxido dismutasa, TG: Triglicéridos, ICC: Índice cintura cadera, LPO: lipoperóxidos.

## 9. DISCUSIÓN

La diabetes mellitus es considerada un problema de salud pública en el mundo por su magnitud y trascendencia. En este sentido, en nuestro país es la primera causa de muerte general, además de propiciar un alto porcentaje de secuelas incapacitantes, tales como ceguera, insuficiencia renal crónica, e insuficiencia vascular periférica con amputaciones.<sup>75-76</sup>

En México en 1980 la DM era la octava causa de muerte en población general y para 1990 ocupó el cuarto lugar, así mismo, en la siguiente década, en el año 2000, se reportó como la primer causa de mortandad en la población general y en el 2001 la segunda causa de muerte para los mayores de 65 años.<sup>5</sup>

Las evidencias científicas han demostrado que el EOx, la hiperleptinemia y la inflamación crónica se presentan durante el proceso normal de envejecimiento. Así mismo, se ha observado una interacción entre dichos mecanismos que favorecen y potencializan las enfermedades crónico-degenerativos de mayor prevalencia durante la vejez, tales como la DM tipo2 y la hipertensión arterial.<sup>95-99</sup>

Por otro lado, debido a las similitudes fisiopatológicas de la DM con el proceso de envejecimiento, se ha propuesto que esta enfermedad es un modelo de envejecimiento prematuro o acelerado, ya que el paciente diabético aunque no sea anciano, también presenta hiperleptinemia, inflamación y EOx, además de características fenotípicas de mayor edad que la cronológica. Por tal motivo, en esta investigación se evaluó la influencia del envejecimiento sobre la hiperleptinemia y EOx en sujetos diabéticos.<sup>93</sup>

Los resultados de nuestro estudio muestran concentraciones significativamente más altas de HbA1c y LPO en los diabéticos jóvenes, lo cual se contrapone con nuestra hipótesis, ya que suponíamos que el envejecimiento favorecería la generación de RL y consecuentemente la descompensación diabética. En este sentido, Aguirre et al. (1998),<sup>96</sup> Finkel et al.(1998)<sup>71</sup>, Cadenas et al. (1996)<sup>107</sup> y Samiec et al. (1998)<sup>108</sup> han demostrado un incremento en los niveles de los marcadores de EOx en sujetos con DM conforme aumenta la edad, así como niveles más bajos de las enzimas antioxidantes.

Los hallazgos del presente estudio no deben considerarse como paradójicos, ya que se ha reportado que los AJ presentan mayor porcentaje de complicaciones diabéticas, lo cual puede estar asociado al mayor EOx que presentan los AJ con DM tipo2 y probablemente sea compensado gradualmente durante el envejecimiento a través del proceso fisiológico denominado hormesis y al mejor estilo de vida observado en los AM con DM tipo 2 en comparación con los AJ.<sup>109</sup>

Por otro lado, encontramos una asociación estadísticamente significativa entre los niveles de leptina con el género femenino y el IMC, lo cual es congruente con lo reportado por Sivitz et al. (2003)<sup>110</sup>, Neuhauser et al. (2000)<sup>111</sup> y Mendoza-Núñez et al. (2002)<sup>47</sup>. Así mismo, se observaron niveles de leptina más altos en las mujeres jóvenes asociados con valores más altos de IMC. En este sentido el sobrepeso y la hiperleptinemia podrían ser considerados como datos clínicos asociados a la descompensación diabética. También la actividad de la SOD incrementada en los diabéticos jóvenes podría ser un mecanismo compensatorio al mayor estrés oxidativo. En relación al ácido úrico se encontraron niveles significativamente más altos en los AM, cuya función antioxidante de este producto catabólico durante el envejecimiento ha sido reportado por algunos autores.<sup>62-64, 69</sup>



Respecto a la frecuencia de hiperleptinemia y niveles bajos de las enzimas antioxidantes, no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los grupos, lo cual se contrapone con nuestra hipótesis, ya que incluso, el porcentaje de niveles altos de LPO es significativamente superior en los jóvenes; esto puede ser explicado si se considera que en ambos grupos los sujetos son diabéticos y que los AM presentan cierta ventaja respecto a los jóvenes, ya que los AM se han adaptado a la enfermedad y han adoptado un mejor estilo de vida, sobretodo, considerando que los AM estudiados son sujetos "supervivientes", que resistieron a lo largo de su vida retos biológico y ambientales, incrementado en cierta medida su resistencia biológica.

Por otro lado, aunque encontramos mayor el porcentaje de descompensación diabética en los jóvenes, la resistencia a la insulina fue mayor en los ancianos, cuya alteración ha sido reportada durante el proceso normal del envejecimiento, la cual se intensifica con la DM, no obstante es de llamar la atención, que a pesar de la mayor resistencia a la insulina, los AM presentan menor porcentaje de descompensación diabética.

En lo que se refiere a la relación entre la leptina y los marcadores de descompensación diabética, encontramos que en las mujeres jóvenes existe una correlación positiva con la insulina y negativa con los niveles de triglicéridos ambas estadísticamente significativas, al mismo tiempo en los AM la correlación con los triglicéridos es positiva y la correlación con la insulina es de mayor magnitud, y también observa con la resistencia a la insulina. Respecto a los triglicéridos, la correlación negativa en las jóvenes puede explicarse si se considera el efecto oxidativo de la leptina sobre los ácidos grasos, ya que se ha reportado que la leptina incrementa la oxidación de ácidos grasos en población delgada mientras en la obesa no se observa dicho efecto, lo cual se atribuye a la existencia de resistencia a la leptina en los obesos y en nuestro caso, sería resistencia a la leptina en los adultos mayores.<sup>112</sup>

La relación entre la leptina y la insulina, observada en nuestro trabajo coincide con lo reportados ampliamente en la literatura, pues se ha descrito que existe un mecanismo de retroalimentación entre la leptina y la insulina por medio del cual la leptina en concentraciones normales inhibe la secreción de insulina, entonces cuando hay resistencia a la leptina se propicia la hiperinsulinemia, proceso que es más evidente en los AM, como consecuencia del proceso de envejecimiento.<sup>80</sup>

Del análisis de regresión logística por grupo de edad, observamos que en los jóvenes la resistencia a la insulina es factor de riesgo más importante para la descompensación, lo cual resulta lógico si consideramos todas las alteraciones secundarias al efecto de la resistencia a la insulina en los diversos órganos y tejidos. Otro factor de riesgo relevante tanto en los jóvenes como en los mayores fueron los niveles bajos de la enzima antioxidante SOD.

Los resultados de nuestro estudio son bioquímicamente consistentes, de ahí que podemos aseverar que los AJ presentar mayor EOx, hiperleptinemia y mayor porcentaje de positividad a la PCR, incrementando su vulnerabilidad para las complicaciones diabéticas.

Finalmente el análisis de riesgos en toda la población demostró que el factor de riesgo más importante para la descompensación diabética es la edad (<60 años), lo cual a pesar de contraponerse con la hipótesis planteada, resulta lógico si consideramos el hecho de que los jóvenes están en una etapa más temprana de la enfermedad, por lo que probablemente su organismo empieza a adaptarse o se encuentra en proceso de lograrlo, y el efecto son los resultados que observamos.

Aunque los resultados no pueden considerarse del todo concluyentes debido a lo limitado del tamaño de la muestra y por tratarse de un estudio

transversal, nos permiten señalar que debemos continuar la línea de investigación para desmitificar que el envejecimiento en si mismo constituye un factor de riesgo de descompensación de padecimientos crónico-degenerativos como la DM tipo 2.

Por otro lado, nuestros resultados deben alertar a los médicos, sobre el mayor riesgo de complicaciones diabéticas de los AJ, para la implementación de medidas preventivas y terapéuticas contra el EOx y el proceso inflamatorio crónico que acompaña la DM tipo2.

## 10. CONCLUSIONES

### HIPÓTESIS:

*Considerando las evidencias científicas respecto a que el envejecimiento y la DM tipo2 cursan con un proceso inflamatorio crónico, y EOx, suponemos que los adultos mayores con DM tipo2 presentarán mayor EOx, niveles séricos de leptina y PCR que los adultos jóvenes diabéticos.*

### CONCLUSIONES:

- Los niveles más altos de leptina, proteína C reactiva, lipoperóxidos y estrés oxidativo en los adultos jóvenes diabéticos en comparación con los adultos mayores, demuestran que el proceso de envejecimiento no constituye un factor de riesgo de descompensación diabética.
- El proceso de envejecimiento en sí mismo no implica mayor alteración en el organismo del diabético, por lo que es posible que se dé una adaptación biológica y por lo tanto los adultos mayores logran un mejor control de su enfermedad en comparación con los jóvenes.

## 11. PERSPECTIVAS

- Los resultados obtenidos justifican el plantear darle continuidad al estudio con el fin de corroborar el efecto observado manejando una población mayor en ambos grupos.
- Las evidencias científicas del estudio sugieren que los sujetos diabéticos jóvenes tienen mayor riesgo de descompensación diabética, por lo que sería conveniente que los médicos quienes atienden a estos pacientes realicen ensayos clínicos, con el fin de probar la eficacia de antiinflamatorios y antioxidantes para la prevención de posibles complicaciones diabéticas.

---

---

## 12. REFERENCIAS

1. Bruce R, Troen MD. The biology of aging. *Mount Sinai J Med* 2003; 70: 3-22.
2. Knight JA. The aging process. In: *Laboratory medicine and the aging process*. Chicago: ASCP Press; 1996. p. 1-13.
3. Harman, D. The aging process. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981;78, 7124-7128.
4. Strehler B, North D. Cell-type specific codon usage and differentiation. *Mech Ageing Dev* 1982; 18: 285-313.
5. Sánchez-Rodríguez MA, Mendoza-Nuñez VM. Envejecimiento, enfermedades crónicas y antioxidantes. México: Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM; 2003. p. 15-79.
6. McEwen BS. Sex, stress and hippocampus allostasis, and allostasis load and the aging process. *Neurobiol Aging* 2002; 23: 921-939.
7. Seeman TE, McEwen BS, Rowen JW, Singer BH. Allostatic load as a marker of cumulative biological risk: McArthur studies of successful aging. *PNAC* 2001; 98: 4770-4775.
8. Olshansky SJ, Hayflick L, Cames BA, No truth to the fountain of youth. *Sci Am* 2002; 286: 78-81.
9. Semsei I. On the nature of aging. *Mech Ageing Dev* 2000; 117:93-108
10. Christensen K, Orstavic KH, Vaupel JW.. The X chromosome and the female survival advantage. *Ann NY Acad Sci* 2001; 954: 175-183.
11. Hayflick L. The cell biology of human aging. *Sci Am* 1990; 142: 1-12.
12. Lavoie JC, Chessex P. Gender and maturation affect glutathione status in human neonatal tissues. *Free Radic Biol Med* 1997; 23: 648-657.
13. Lee TM, Su ShF, Tsai ChCh, Lee YT, Tsai CH. Cardioprotective effect of 17 $\beta$ -estradiol produced by activation mitochondrial ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels in canine hearts. *J Mol Cell Cardiol*, 2000; 32: 1147-1158.
14. Habif S, Mutaf I, Turgan N, Onur E, Duman C, Özmen D, Bayindir O. Age and gender dependent alterations in the activities of glutathione related enzymes in healthy subjects. *Clin. Biochem.* 2001; 34: 667-671.

15. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 1956; 11: 298-300.
16. United Nations. Population ageing 2002. Division Departamento of Economic and Social Affairs. United Nations 2002. Available from <http://www.un.org/esa/population/publication>.
17. Partida BV. Monto y estructura de la población en el año 2000 y perspectivas en el 2050. *Demos. Carta Demográfica sobre México* 2001; 1: 6-7.
18. Negrete SME. Distribución geográfica de la población mayor. *Demos. Carta demográfica sobre México* 2001; 1: 18-20.
19. Secretaria de Salud. Los retos de la transición. Hipertensión, diabetes y enfermedades cardiovasculares. México: Secretaria de Salud, serie cuadernos de salud No. 3; 1994.
20. Chávez A, De Chávez M, Roldán JA, Bermejo S, Ávila A. La nutrición en México y la transición epidemiológica. México: Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán"; 1993.
21. Velázquez MO, Rosas PM, Lara EA, Pastelín HG, Attie F, Tapia CR. Hipertensión arterial en México: resultados de la Encuesta Nacional de Salud (ENSA) 2000. *Archivos de cardiología de México* 2002; 17: 71-84.
22. Secretaria de Salud: Encuesta Nacional de enfermedades crónicas. 1993. 2ª ed. México: Secretaría de Salud; 1995.
23. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372:425-32.
24. Wiliding J, Widdowsan P, William G. *Neurobiology*. *Brit Med Boul* 1997; 53: 286-306.
25. Baile CA, Della-Fera MA, Martin RJ. Regulation of metabolism and body fat mass by leptin. *Annu Rev Nutr* 2000; 20: 105-27.
26. Qureshi A, Kopelman PG. Leptin-fat messenger or fat controller. *Clin Endocrinol* 1997; 47: 169-71.

27. Schwartz MW, Seeley RJ, Campfield LA, BurnP, Baskin GD. Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus. *J Clin Invest* 1996; 98: 1101-06.
28. Bray GA. Leptin and leptinomania. *Lancet* 1996; 348: 140.
29. Caro Jf, Kolaczynski JW, Nyce MR, Ohannesian JP, Opentanaua I, Goldman WH et el. Decreases cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a posible mechanism of leptin resistance. *Lancet* 1996; 348: 159-61.
30. Golden PL, Maceagnan TJ, Pardridge WM. Human blod-brain barrier leptin receptor. *J Clin Invest* 1997; 99: 14-18.
31. Gura T. Tracing leptin's partners in regulating body weight. *Science* 2000; 287:1738-41.
32. Considine RV. Regulation of leptin production. *Rev Endocrinol Metab Disorders* 2000; 2: 357-63.
33. Havel PJ. Mechanisms regulating leptin production: implications for control of energy balance. *Am J Clin Nutr* 1999; 70: 305-6.
34. García-Mayor RV, Andrade MA, Ríos M, Lage M, Dieguez C, Casanueva F. Serum leptin levels in normal children: relationship age, gender, body mass index, pituitary-gonadal hormones and pubertad stage. *J Clin Endocrinol Metab*: 82: 2849-55.
35. Stein TP, Scholl TO, Schutler MD, Schroeder CM. Plasma leptin influence gestational weight gain and postpartum weight retention. *Am J Clin Nutr* 1998; 60: 1236-40.
36. Rosenbaum M, Nicolson M, Hirsch J, Heymsfield S, Gallagher D, Chu F et al. Effects of gender, body composition, and menopause on plasma concentrations of leptin. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 3424-27
37. Soares MJ, Piers LS, O'Dea K, Colllier GR. Plasma leptin concentration, basal metabolic and respiratory quotients in young and older adults. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000; 24: 1592-9.
38. Chauveau P, Delclaux C, Baillet L, Barthe N, Gobinet A, Combe C, et al. No change of hyperleptinemia despite a decrease in insuline concentration in patients



- 
- 
- with chronic renal failure on a supplemented very low protein diet. *Am J Kidney Dis* 2000; 36: 1201-6
39. Ducy P, Amling M, Takeda S, Priemel M, Schilling AF, Beil FT, et al. Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay a central control of bone mass. *Cell* 2000; 21: 197-207.
40. Odabasi E, Ozata M, Turan M, Bingol N, Yonem A, Cakir B, et al. Plasma leptin concentration in postmenopausal women with osteoporosis. *Eur J Endocrinol* 2000;142: 170-3.
41. Isidori A, Strollo F, More M, Caprio M, Aversa A, Moretti C, Frajese G, et al. Leptin and aging correlation with endocrine changes in male and female healthy adult population of different body weights. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;1954-62.
42. Escobar-Morreale HF, Escobar del Rey F, Morreale G. Thyroid hormones influence serum leptin concentrations in the rat. *Endocrinol* 1997; 138: 4485-88.
43. Gill MS, Toogood AA, O'Neill PA et al. Relationship between growth hormone (GH) status, serum leptin and body composition in healthy and GH deficient elderly subjects. *Clin Endocrinol* 1997; 47: 161-7.
44. Tang CM, Havel PJ, Jacobs RR, Larsen PJ, Cameron JL. Central administration of leptin inhibits food intake and activities of sympathetic nervous system in rhesus macaques. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 711-17.
45. Ostlund RE, Yang JW, Klein S, Gingerich R. Relation between plasma leptin concentration and body fat, gender, diet, age, and metabolic covariates. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 3909-13.
46. Ahrén B, Manssons S, Gingerich R, Havel P. Regulation of plasma leptin in mice: influence of age, high-fat diet and fasting. *Am J Physiol* 1997; 273: 113-19.
47. Mendoza-Núñez VM, García-Sánchez A, Sánchez-Rodríguez M, Galván-Duarte RE, Fonseca-Yerena A. Overweight, waist circumference, age, gender, and insulin resistance as risk factor for hyperleptinemia. *Obesity Research* 2002; 273:113-19.

48. Paolisso G, Tagliamante MR, Galderis M, Zito GA, Petrocelli A, Carella C, et al. Plasma leptin levels is associated with myocardial wall tickness in hypertensive insulin-resistance men. *Hypertension* 1999; 34: 1047-52.
49. Soderberg S, Ahren B, Jansson JH et al. Leptin is associated with increases risk of myocardial infarction. *J Intern Med* 1999; 146: 409-18.
50. Aizawa-Ate M, Ogawa Y, Masazaki H, Ebihara K, Satoh H, Iwai H, et al. Pathophysiological role of leptin in obesity-related hypertension. *J Clin Invest* 2000; 105: 1243-52.
51. Agata J, Masuda A, Takada M, Higashiaura K, Murakami H, Miyazaki Y, et al. High plasma immunoreactive leptin level in essential hypewrtension. *Am J Hypertens* 1997; 10: 1171-4.
52. Creutzberg EC, Wouters Ef, Vanderhaven-Augustin Im, Dentener MA, Disturbances in leptin metabolism are related to energy imbalance during acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respia Crit Care Med* 2000; 162: 1239-45.
53. Tessitore L, Vizio B, Jenkins O, De Stefano I, Ritossa C, Argiles JM, et al. Leptin expression in colorectal ans breast cancer patients. *Int Jol Med* 2000; 5: 421-6.
54. Valcavi R, Zini M, Peino R, Casanova FI, Dieguez C. Influence of thyroid status on serum immunoreactive leptin levels. *J Crin Endocrinol Metab* 1997; 82: 632-34.
55. Wang ZW, Pan WT, Lee Y, Kakuma T, Zhou YT, Unger RH. The role of leptin resistance in the lipid abnormalities of aging. *FASFB J* 2001; 15:108-14.
56. Hermann MB, Simoni N, Nieschiag E. Strong association between serum levels of leptin and testosterone in men. *Clin Endocrinol* 1997;47:237-40.
57. Jan K, Vanden S, Gaemaeret S, De Bacquers D, Kaufman JM. Serum leptin levels in healty ageing men: are decreased serum testosterone and increased adiposity in elderly men the consequence of leptin deficiency? *Clibn Endocrinol* 1999; 51: 81-8.

58. Nystrom F, Ekman B, Osterlum M, Lindstrom T. Serum leptin concentrations in a normal population and GH deficiency: Negative correlation with testosterone in men and effects of GH treatment. *Clin Endocrinol* 1997;47: 161-7.
59. Vettor R, De Pergola G, Pagano C, Engaro P, Laudadio E, Giorgiano F, et al. Gender differences in serum leptin in obese people relationship with testosterone, body distributions and insulina sensitive. *Eur J Clin Invest* 1997; 27: 1016-24.
60. Yeh S, Schuster MV. Geriatric cachexia: the role of cytokines. *Am J Clin Nutr.* 1999; 70: 183-97.
61. Harman D. Free radical theory of aging. *Mutat Res*, 1992; 275: 257-266.
62. Halliwell B, Gutteridge MC, Cross E. Free radicals, antioxidants and human disease: where are we now? *J Lab Clin Med* 1992; 119: 598-620.
63. Halliwell B. Reactive Oxygen species in living systems: source, biochemistry and role in human disease. *Am J Med* 1991; 91: 3C-14S-3C-22S.
64. Gonzalez-Torres MC, Betancourt-Rule M, Ortiz-Muñiz R. Daño oxidativo y antioxidantes. *Bioquimia* 2000; 25: 3-9.
65. Rodríguez-Capote R, Céspedes-Miranda S. Estrés oxidativo y envejecimiento. *Rev Cubana Invest Biomed* 1999; 18: 67-76.
66. Rodríguez-Perón JM, Menendez-López JR, Trujillo-López Y. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Rev Cubana Med Milit* 2001; 30: 36-44.
67. Freeman BA, Crapo DM. Biology of disease. Free radicals and tissue injury. *Lab Inv* 1982; 47: 412-426.
68. Halliwell B. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. (Letter). *Free radical Biol Med* 1995; 18: 125-126.
69. Niki E. Action of antioxidants against oxidative stress. In: Dizdaroglu M, Katarataya AE (Eds.) *Advances in DNA damage and repair*. New York: Kluwer Academic/ plenum publishers. 1999. p. 313-318.
70. Gutteridge JM. Biological origin free radicals and mechanisms of antioxidant protection. *Chem Biol Interac* 1994; 91: 133-140.
71. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000; 408: 239-247.

72. Bergendi L, Benes L, Durackova Z, Frencik M. Chemistry physiology and pathology of free radicals. *Life Sci* 1999; 65: 1865-1874.
73. Villa-Caballero L, Nava-Ocampo A, Ponce-Monter H, Frati-Munari A. El estrés oxidativo. ¿Es necesario medirlo en el paciente diabético? *Gac Med Mex* 2000; 136: 249-255.
74. VanderJagt D, Harrison JM, Ratliff M, Hunsaker I, VanderJagt E. Stress oxidative indices in IDDM subjects with and without long term diabetic complication. *Clin Biochem* 2001; 34: 265-270.
75. Secretaría de Salud Modificación a la Norma Oficial Mexicana, NOM-015-SSA2-1994, para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus en la atención primaria. México D.F.: Diario Oficial de la Federación, 7 de abril 2000.
76. Olaiz G, Rojas R, Barquera S, Shaman T, Aguilar C, Cravioto P, López P, et al. Encuesta Nacional de Salud 2000. Tomo 2. La salud de los adultos. Cuernavaca, Mor; Instituto Nacional de Salud Pública; 2003. p.94-103.
77. Bloomgarden ZT. The epidemiology of complications. *Diabetes Care* 2002; 25: 924-932.
78. Sánchez-Rodríguez M, García-Sánchez A, Retana-Ugalde, Mendoza-Núñez VM. Serum leptin levels and the blood pressure in the overweight elderly. *Arch Med Res* 2000; 31: 421-428.
79. Bloomgarden ZT. Obesity, hypertension, and insuline resistance. *Diabetes Care* 2002; 25: 2088-2097.
80. Ceddia BR, Koistinen HA, Zierath RJ, Sweeney G. Analysis of paradoxical observations on the association between leptin and insuline resistance. *FASEB J* 2002; 16: 1163-1176
81. Zimmet P, Boyko E, Collier GR, Courten M. Etiology of the metabolic syndrome: potential role of insulin resistance, leptin resistance and other players. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 30:25-44.
82. Sivitz WL, Walsh SA, Morgan DA, Thomas MJ, Haynes WG. Effects of leptin on insuline sensitivity in normal rats. *Endocrinol* 1997; 138: 3395-3401.

83. Barzilai N, Wang J, Massilon D, Vuguin P, Hawkins M, Rossetti L. Leptin selectively decreases visceral adiposity and enhances insuline action. *J Clin Invest* 1997; 100:3105-3110.
84. Ceddia RB, William WN, Curi R. Comparing effects of leptin and insuline on glucose metabolism in skeletal muscle : evidence for an effect of leptin on glucose uptake and decarboxilation. *Int. J. Obes. Relat Metab Disord.*1999; 23: 75-82.
85. Muoio DM, Dohm GL, Tapscott E, Coleman RA, Leptin opposes insuline's effects on fatty acid partitioning in muscels isolated from obese ob/ob mice. *Am J Physiol* 1999;276: 913-921.
86. Unger RH, Zhou YT, Orci L. Regulation of fatty acid homeostasis in cells: novel role of leptin. *Proc Natl Acad Sci* 1999;96:2327-2332.
87. Ceddia RB, William WN, Carpinelli AR, Curi R. Modulation of insuline secretion by leptin. *Gen Pharmacol* 1999; 32:233-237.
88. Kieffer TJ, Habener JF. The adipoinsular axis effects of leptin on pancreatic beta-cells. *Am J Physiol* 2000; 278: 1-14.
89. Bloomgarden ZT. European Association for the study of diabetes (EASD) 2001 meeting. *Diabetes Care* 2002;25:1229-1236.
90. Mendoza-Núñez VM, Sánchez-Rodríguez MA, Galván-Duarte RE, Retana-Ugalde R. Hyperleptinemia and oxidative stress in elderly with arterial hypertension. *TIP Rev Espec Cienc Quím Biol* 2003; 6: 81-86.
91. Koenig RJ, Peterson CM, Jones RL, Saudek C, Lehrman M, Cerami A. Correlation of glucose regulation and hemoglobine A1c in diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1976; 295: 417-420.
92. Flecha LG, Castello PR, Gagliardino JJ, Rossi FCJ. La glucosilación no enzimática de proteínas. Mecanismo y papel de la reacción en la diabetes y el envejecimiento. *Ciencia al Día Internacional* 2000;3: 1-17.
93. Koenig RJ, Peterson CM, Jones RL, Saudek C, Lehrman M, Cerami A. Correlation of glucosa regulation and hemoglobina A1c in diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1976; 295: 417-420.

- 
- 
94. Clapés S, Torres O, Companioni M, Villariño U, Broche F, Céspedes EM. Peroxidación lipídica y otros indicadores de estrés oxidativo en pacientes diabéticos, *Rev Cubana Inves Biomed* 2001; 20: 93-98
  95. Davison G, George L, Jackson SK, Young IS, Davies B, Bailey DM et al. Exercise, free radicals, and lipid peroxidation in type 1 diabetes mellitus. *Free Radic Biol Med* 2002; 33: 1543-1551.
  96. Aguirre F, Martin L, Grinspan D, Ruíz M, Hager A, De Paoli T et al. Oxidative damage, plasma antioxidante capacity and glucemic control in elderly NIDDM patients. *Free Radic Biol Med* 1998; 24: 580-585.
  97. Sakai K, Matsumoto K, Nishikawa T, Suefuji M, Nakamaru K, Hirashima Y, et al. Mitochondrial reactive oxygen species reduce insulin secretion by pancreatic B-cells. *Biochem Biophys Res Comm* 2003; 300: 216-222.
  98. Guha M, Bai W, Nadler JL, Natarajan R. Molecular mechanisms of tumor necrosis factor alpha gene expression in monocytic cells via hyperglycemia-induced oxidant stress-dependent and independent pathways. *J Biol Chem* 2000; 275: 17728-17739.
  99. Evans JL, Glodfire JD, Maddux BA, Grodsky GM. Are oxidative estress activated signaling pathways mediators of insuline resistance and B-cells disfunction? *Diabetes* 2003; 52: 1-8.
  100. Paolisso G, Rizzo MR, Mazziotti G et al. Advancing age insulin resistance: relo of plasma tumor necrosis factor- alfa. *Am. J Physiol* 1998; 275: E294-9.
  101. Pedersen M, Bruunsgaard H, Weis N, Blendel HW, Andreassen UB, Eldrup E, et al. Circulating levels of TNF alpha and IL-6 relation to truncal fat mass and muscle mass in healty elderly individuals and in patients with type 2 diabetes. *Mech Ageing Dev* 2003; 124: 495-502.
  102. Boulomié A, Marumo T, Lafontan M, Busse R. Leptin induces oxidative estress in human endotelial cells. *FASEB J* 1999 ; 13 : 1231-1238.
  103. Montovani G, Maccio A, Madeddu C, Mura L, Gramignano G, Lusso MR, et al. Cuantitative evaluation of oxidative stress, chronic inflammatory indices and

leptin in cancer patients: correlation with stage and performance status. *Int J Cancer* 2002; 98: 84-91.

104. Secretaría de Salud, Norma Oficial Mexicana NOM-030-SSA2-1999, para la prevención, tratamiento y control de la hipertensión arterial. México D.F. : Diario Oficial de la Federación, 5 de abril de 2000.

105. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Taylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insuline resistance and B-cell function from fasting plasma glucose and insuline concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28: 412-419.

106. Jentzsch A, Bachmann H, Fürst P, Bielsalski H. Improved analisis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Rad Biol* 1996; 20: 251-256.

107. Cadenas F. Mitochondrial free radicals generation, oxidative stress and aging. *Free Radic Biol Med* 2000; 29: 222-230

108. Samiec P, Drews-Bostch C, Flagg E, Kurtz J, Sternberg P, Reed R, Jones D. Glutathione in human plasma decline in association with aging, age related macular degeneration. *Free Radic Biol Med* 1998; 24: 699-704.

109. Bukowski JA, Lewis J. Hormesis and health: a little of what your fancy may be good for you. *South Med J* 2000; 93: 371-374.

110. Sivitz W, Wayson s, Bayless M, Larson L, Sinkey C, Bar R, Haynes W. Leptin and body fat in type 2 diabetes and monodrug therapy. *J Clin Endocrinol & Metab* 2003; 88: 1543-1553.

111. Neuhäuser-Berthlod M, Herbert B, Lührmann P, Sültemeier A, Blum W, Frey J, et al. Resting metabolic rate, body composition, and serum leptin concentration in a free-living elderly population. *Europ J Endocrinol* 2000; 142: 486-492.

112. Steinberg G, Parolin M, Heigenhauser F, Dyck D. Leptin increases FA oxidation in lean but not obese human skeletal muscle: evidence of peripheral leptin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 283: E187-E-192.