



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

VARIACIONES DEL METABOLISMO OXIDATIVO MEDIANTE NIVELES DE
GLUTATIÓN, PEROXIDACIÓN LIPÍDICA, ÁCIDO ÚRICO Y ACTIVIDAD DE
LA CATALASA EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 2 ATENDIDOS
EN LA UNIDAD DE DIABETES DEL HOSPITAL DR. JULIO
RODRÍGUEZ. CUMANÁ, ESTADO SUCRE
(Modalidad: Tesis de Grado)

ANARELYS DEL VALLE LUGO PADRÓN

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOANÁLISIS

CUMANÁ, 2011

VARIACIONES DEL METABOLISMO OXIDATIVO MEDIANTE NIVELES DE
GLUTATIÓN, PEROXIDACIÓN LIPÍDICA, ÁCIDO ÚRICO Y ACTIVIDAD DE
LA CATALASA EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 2 ATENDIDOS
EN LA UNIDAD DE DIABETES DEL HOSPITAL DR. JULIO
RODRÍGUEZ. CUMANÁ, ESTADO SUCRE

APROBADO POR:

Prof. Daniel Belmar
Asesor

Dra. Mairin Lemus
Coasesora

Jurado

Jurado

ÍNDICE

DEDICATORIA	I
AGRADECIMIENTOS	II
LISTA DE TABLAS	IV
LISTA DE FIGURAS.....	V
RESUMEN	VIII
INTRODUCCIÓN.....	1
METODOLOGÍA.....	7
Población y muestras	7
Criterios de exclusión	7
Normas de bioética	7
Obtención y procesamiento de las muestras.....	8
Determinación sérica de glucosa	9
Determinación de glicohemoglobina.....	9
Determinación sérica de colesterol total.....	9
Determinación sérica de HDL – colesterol.....	10
Determinación sérica de LDL – colesterol	10
Determinación sérica de VLDL – colesterol	10
Determinación sérica de triglicéridos	11
Determinación de peroxidación lipídica.....	11
Determinación enzimática de la catalasa (CAT)	12
Determinación de glutatión (GSH).....	13
Determinación sérica de ácido úrico (AU)	14
Análisis estadístico	14
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
CONCLUSIONES.....	27
RECOMENDACIONES.....	28
BIBLIOGRAFÍA	29
APÉNDICES	33
ANEXOS	38
HOJA DE METADATOS	44

DEDICATORIA

A

Santo Domingo de Guzmán y la Virgen Del Valle, por siempre iluminarme el camino.

Mis padres, Luis Lugo e Isnarda de Lugo, soy quien soy hoy en día por ellos, les debo todo, este gran triunfo es de ustedes, me siento extremadamente orgullosa de contar con unos valiosos padres.

Mis hermanos, Luis José, Iscaralis e Isnarmy por estar siempre a mi lado, apoyándome.

Mis sobrinos, Anabedis, Luis Carlos y Valeria Alejandra, que este logro les sirva de ejemplo e inspiración para que alcancen cada una de las metas que se propongan en sus vidas.

Mis amigos Suyin, Gabriela, Félixara, María Fernanda, Cruz Leila, Bertinellys, Jordanna, Miguel y muy especialmente a Lilian, quien ha estado a mi lado en todo momento, desde el inicio de esta carrera, como una hermana, compartiendo grandes momentos y recuerdos, brindándome todo su apoyo, sobretodo en la última etapa universitaria. A todos, muchas gracias por su amistad, ánimo y compañía en las diferentes etapas de mi vida en la Universidad, excelente equipo de estudio.

Toda mi familia, que de una u otra manera estuvieron siempre pendiente de mí, muy especialmente a tía Elia.

AGRADECIMIENTOS

A

Mi Dios, por darme mucha salud, sabiduría y por tenerme siempre en sus manos.

Mis padres, por brindarme la mejor educación, gracias por todo el esfuerzo, apoyo y confianza depositada en mí. Los quiero mucho, ocupan un lugar especial.

Mis hermanos, por ser mis ejemplos a seguir, gracias por sus buenos consejos.

Profesor Daniel Belmar, por la receptividad y asesoría para el desarrollo de este trabajo de investigación. Gracias por colocar en mi camino a unos de los pilares fundamentales de este logro.

Dra. Mairin Lemus, muchas gracias por su esfuerzo y dedicación. Sus conocimientos, orientación, persistencia, paciencia y motivación han sido fundamentales para alcanzar esta meta. Excelente persona, mil gracias por todo lo recibido.

Todo el personal que labora en la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez, por la colaboración prestada durante todo el desarrollo de la toma de muestras.

Los Lcdos Genaro González y Aldo Guzmán, por las colaboraciones prestadas en este trabajo de investigación.

La TSU Heidy Márquez y la Lcda Luz Mary, por sus ayudas prestadas, gracias por sus sabios consejos en los periodos oscuros de un trabajo aparentemente interminable.

Todas aquellas personas que de una u otra manera hicieron posible la culminación de este trabajo.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Asociación entre los niveles de glicemia y las variables estudiadas en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2, no controlados, controlados e individuos controles que asistieron a la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. Fs; Fisher; P: probabilidad; Ns: no significativo; *: diferencias significativas (relación); DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados; C: individuos sanos..... 26

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Niveles de glucosa sérica (mg/dl) en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos que asistieron a la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. $K_w= 1,45$, $p< 0,001$. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados y C: individuos sanos..... 15
- Figura 2.** Niveles de hemoglobina glicosilada (%) en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos que asistieron a la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. $K_w= 0,0000031$, $p< 0,001$. GlicoHb: hemoglobina glicosilada; DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados y C: individuos sanos..... 16
- Figura 3.** Niveles de colesterol total (mg/dl) en suero de pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos que asistieron a la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. $K_w= 0,0000075$, $p< 0,001$. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados y C: individuos sanos. 17
- Figura 4.** Niveles de HDL-C (mg/dl) en suero de pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos que asistieron a la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. $K_w= 0,00031$, $p< 0,001$. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados y C: individuos sanos..... 18
- Figura 5.** Niveles de LDL-C (mg/dl) en suero de pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos que asistieron a la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. $K_w= 0,000068$, $p< 0,001$. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados y C: individuos sanos. 19

Figura 6. Niveles de VLDL-C (mg/dl) en suero de pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos que asistieron a la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. Kw= 0,000083, p< 0,001. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados y C: individuos sanos. 20

Figura 7. Niveles de triglicéridos (mg/dl) en suero de pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos que asistieron a la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. Kw= 0,000077, p< 0,001. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados y C: individuos sanos. 21

Figura 8. Niveles de MDA (nmol/ml) en plasma de pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos que asistieron a la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. Kw= 0,00036 p< 0,001. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados y C: individuos sanos. 22

Figura 9. Actividad enzimática de la catalasa (U/ml) en sangre completa de pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2, no controlados, controlados e individuos sanos que asistieron a la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. Kw= 0,11 p> 0,05. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados y C: individuos sanos. 23

Figura 10. Niveles de GSH en GR (mmol/ml de GR) de pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos que asistieron a la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. Kw= 6,21 p< 0,001. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados y C: individuos sanos. 24

Figura 11. Niveles de ácido úrico sérico (mg/dl) en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos que asistieron a la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre.

Kw= 0,0031 p< 0,01. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados y
C: individuos sanos..... 25

RESUMEN

Con la finalidad de evaluar las variaciones del metabolismo oxidativo mediante niveles de glutatión, peroxidación lipídica, ácido úrico y actividad de la enzima catalasa, se estudiaron 40 pacientes adultos de ambos sexos en edades comprendidas entre 30 y 60 años, con diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) (no controlados y controlados) con evolución de hasta 10 años, provenientes de la Unidad de Diabetes del hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre (grupo experimental) y 20 individuos adultos, aparentemente sanos (grupo control). Además, se determinaron los niveles de glicemia, hemoglobina glicosilada y perfil lipídico. Mediante la aplicación del análisis de Kruskal-Wallis en los tres grupos en estudios, se hallaron diferencias altamente significativas para la glicemia, hemoglobina glicosilada, perfil lipídico, glutatión reducido y malonildialdehído. Para el ácido úrico se encontraron diferencias muy significativas y no se hallaron diferencias significativas en la actividad de la enzima catalasa. Los pacientes diabéticos no controlados mostraron los valores más altos en los parámetros estudiados con una disminución de GSH, al compararse con los diabéticos controlados que presentaron patrones similares a los individuos sanos. Así mismo, para establecer las posibles asociaciones entre los niveles de glicemia con los parámetros evaluados se aplicó un análisis de correlación entre las variables, encontrándose asociación negativa con los niveles de ácido úrico en los diabéticos no controlados y asociación con los valores de hemoglobina glicosilada en diabéticos no controlados e individuos sanos. Los resultados obtenidos en el presente estudio permiten concluir que existen evidencias de que el estrés oxidativo se encuentra implicado en la DM2, acentuado en los diabéticos sin control de glicemia, lo que infiere que el buen control de la diabetes puede prevenir daño oxidativo y así mismo disminuir complicaciones en estos pacientes, evitando enfermedades degenerativas y el riesgo aterogénico que suelen presentarse en la enfermedad.

Palabra y/o Frases Claves:

INTRODUCCIÓN

El estrés oxidativo representa un estado caracterizado por un desbalance bioquímico propiciado por la producción excesiva de especies reactivas del oxígeno (EROs) y radicales libres (RL), los cuales provocan daño oxidativo a las biomoléculas y es contrarrestado por los sistemas antioxidantes. Los radicales libres son especies químicas que poseen en el último orbital un electrón no apareado, por lo tanto, son capaces de extraer un electrón de las moléculas vecinas para completar su orbital, convirtiéndose en componentes altamente reactivos y oxidantes que pueden dar lugar a daño celular (1).

El radical superóxido (O_2^-), anión superóxido ($^{\cdot}O_2^-$), hidroxilo ($^{\cdot}OH$), hidroperóxido (HO_2^{\cdot}), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), oxígeno singlete (1O_2) y otros radicales menos abundantes se pueden considerar como las especies reactivas de oxígeno más importantes de los mamíferos (2).

En los últimos años, el estrés oxidativo se ha vinculado con el proceso fisiopatológico de más de 100 enfermedades crónico-inflamatorias, entre las cuales se destacan el cáncer, la enfermedad de Alzheimer, la aterosclerosis, la artritis reumatoide, osteoporosis, el asma bronquial y la Diabetes Mellitus (DM), entre otras (3).

La DM constituye una enfermedad sistémica, crónico-degenerativa, de carácter heterogéneo, la cual se caracteriza por hiperglicemia 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. Se ha clasificado, en función a los requerimientos terapéuticos de insulina, como Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1) o insulino dependiente, la cual suele manifestarse en los niños y adultos jóvenes, por lo general, antes de los 30 años, y Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) o no insulino dependiente, que se inicia en la etapa adulta y cuya incidencia se incrementa durante la vejez (4).

En las personas que padecen de DM2, las células de los músculos, el hígado y los tejidos grasos no usan la insulina de manera adecuada, debido a que el páncreas no puede producir suficiente insulina o la producida no permite la movilización de la glucosa sanguínea a las células para satisfacer las necesidades del cuerpo. Como resultado, la cantidad de glucosa en sangre aumenta, mientras que a las células les hace falta energía. En las personas diabéticas, la hiperglicemia crónica propicia estrés oxidativo, debido a que la glucosa se autooxida y da lugar a la formación de alfacetoaldehídos, H_2O_2 y O_2^- , entre otras EROs (5,6).

El estrés oxidativo es reconocido como un elemento fundamental en el desarrollo de diversos cambios fisiopatológicos relacionados con algunas de las complicaciones crónicas en el paciente diabético. Se reconocen, principalmente, tres mecanismos fisiopatológicos como responsables de un incremento del estrés oxidativo en estos pacientes: 1) la vía de los polioles, a través de la participación del potencial de óxido-reducción de la enzima aldosa reductasa, con acumulación intracelular de sorbitol y fructosa. 2) la glucosilación exagerada de proteínas, con la formación de productos de glucosilación intermedia y avanzada, por ejemplo la carboximetilisina y la hidroximetilisina. 3) la auto-oxidación de la glucosa, a partir de la enolización de la glucosa con formación de productos intermediarios como la 3-desoxiglucosona (7).

La hiperglicemia es la condición fundamental en estos mecanismos, que son capaces de condicionar cambios en la estructura bioquímica tisular, provocando alteraciones en las características fisicoquímicas de estructuras básicas como la del colágeno; éstas a su vez, están relacionadas con la aparición de complicaciones tardías, características de la enfermedad (7).

El estrés oxidativo se ve influenciado por el control glucometabólico, en sujetos con DM1, y en individuos con DM2. Los pacientes con DM2, al mejorar el control glicémico, disminuyen los parámetros de estrés oxidativo. Además, se ha señalado que

el tratamiento temprano con insulina en los pacientes con DM1 corrige el estrés oxidativo, mientras que sólo mejora el estrés en los diabéticos tipo 2 (8).

En pacientes diabéticos con altos niveles de glucosa en sangre un incremento en las EROs, provocando efectos citotóxicos sobre los fosfolípidos de membrana, demostrando una vez más la relación que existe entre el control de la diabetes y estos radicales (9).

El descontrol de la glicemia conduce al incremento de la rapidez de los procesos de glicosilación y oxidación de lípidos y proteínas de membrana, lo que provoca cambios conformacionales de estas macromoléculas y, por lo tanto, el deterioro de sus funciones. La peroxidación de los lípidos es un proceso en donde los ácidos grasos insaturados reaccionan con el oxígeno molecular, mediante un mecanismo de reacción en cadena vía radicales libres y forman hidroperóxidos, los cuales son degradados a una variedad de productos como los alcanales, alquenes, hidroxialquenes, cetonas, alcanos, entre otros, los cuales pueden ser cuantificados por diferentes metodologías, como el caso del malonildialdehído (MDA), un dialdehído producto avanzado de la oxidación (10).

El MDA es el aldehído que se genera en mayor cantidad *in vivo* como producto final de la degradación oxidativa y no enzimática de ácidos grasos poliinsaturados de tres o más dobles enlaces. El MDA es volátil y se difunde rápidamente por todos los órganos mayores y el plasma, por lo que se utiliza como indicador de peroxidación lipídica (8).

Un estudio relacionado demuestra que en los diabéticos analizados, se obtuvieron concentraciones significativamente mayores de MDA en comparación con las observadas en sujetos normales, permitiéndole inferir que el síndrome diabético se relaciona con un mayor estrés oxidativo y éste es mayor en presencia de complicaciones

graves de la DM. De igual forma, concluye que las concentraciones de MDA constituyen un buen marcador del metabolismo oxidativo en pacientes con DM (11).

Las lipoproteínas (LP) presentan con frecuencia cambios cualitativos y cuantitativos en su composición, alterando su metabolismo. La glucosilación no enzimática consiste en la interacción de la glucosa con las proteínas sin la participación de enzimas, en un proceso que depende exclusivamente, de la concentración del monosacárido y del tiempo de contacto con las proteínas determinadas por la vida media de cada una en particular (12).

Las células poseen sistemas antioxidantes que pueden ser enzimáticos, donde se involucran mecanismos, algunas veces complejos, y no enzimáticos en las cuales participan biomoléculas generalmente, con menor masa molecular que las enzimas. El sistema de defensa del organismo frente al estrés oxidativo es asegurado por sustancias antioxidantes y enzimas, las cuales responden rápidamente a los cambios. Entre los más notables antioxidantes, se encuentran las enzimas catalasa y glutatión (13).

La catalasa (CAT) es una hemoproteína que contiene cuatro grupos Hem de amplia distribución intracelular, se concentra principalmente, en peroxisomas y mitocondrias para catalizar la descomposición del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. Representa una de las enzimas más activas que se conocen, exhibiendo una actividad de neutralización de 5 600 000 moléculas de peróxido de hidrógeno por minuto y por molécula de enzima (14,15).

El glutatión es un tripéptido y el principal antioxidante intracelular, actúa como un atrapador de radicales libres y como reductor del H_2O_2 , existe tanto en forma de tiol reducido (GSH), como de disulfuro oxidado (GSSG). La suma de las formas tiol reducido, la de disulfuro oxidado y la porción de glutatión unido a proteínas se conoce como glutatión total (GSHT). Su importancia radica en el papel central que desempeña

en la protección contra el estrés oxidativo, como atrapador de radicales libres y como cofactor de diferentes enzimas antioxidantes (16).

En un estudio llevado a cabo en Cuba, se obtuvieron niveles de GSH disminuidos en pacientes diabéticos, lo cual puede ser una evidencia de la necesidad de utilización del mismo, de la disminución en su síntesis o su regeneración realizada por diferentes enzimas. Este resultado sugiere que, la disminución de GSH pudiera estar relacionada con el incremento de su utilización para conservar la integridad de otras moléculas (17).

En el sistema antioxidante, mediado por sustancias químicas de baja masa molar, se le confiere la mayor capacidad antioxidante al ácido úrico (AU), debido a que su concentración plasmática es 10 veces mayor que las de otros antioxidantes, tales como vitamina E y vitamina C. El AU es un metabolito de las purinas, ácidos nucleicos y nucleoproteínas; niveles anormales de éste en suero indican desórdenes en el metabolismo de las sustancias que lo originan, de alteraciones en su eliminación o de ambos; sus propiedades de antioxidante no enzimático más importante del cuerpo humano sólo han sido consideradas recientemente (18,19).

En el ser humano, el AU es el producto final del metabolismo de las purinas y su concentración es más elevada que en el resto de las especies, lo que podría significar una ventaja evolutiva. Su distribución en el organismo es ubicua, por lo que está presente, tanto dentro de las células, como en la mayoría de los fluidos corporales, lo que le permite tener funciones diversas de gran importancia biológica entre las que destaca su función antioxidante (20).

La disminución de la excreción renal de uratos en pacientes con síndrome metabólico podría explicar la frecuencia incrementada de hiperuricemia, razón por la cual, la hiperuricemia se ha sugerido como un simple marcador de síndrome metabólico (21).

Este estudio se realizó con el propósito de evaluar las variaciones del metabolismo

oxidativo mediante niveles de GSH, peroxidación lipídica, AU y actividad de la CAT en pacientes con DM2, buscando con ello datos de gran ayuda para contribuir con la búsqueda de factores o mecanismos que permitan pronosticar, diagnosticar y controlar esta enfermedad, la cual cada vez va en incremento, evitando así complicaciones crónicas que suelen ocurrir en estos tipos de pacientes, ocasionándoles muchas veces la muerte. Además, evaluar las consecuencias de la excesiva producción de radicales libres en la enfermedad y la vinculación o no de los niveles de glicemia con algunos marcadores de estrés oxidativo.

METODOLOGÍA

Población y muestras

Para el desarrollo de la presente investigación, se analizaron 40 muestras sanguíneas de pacientes con DM2 no controlados y controlados (grupo experimental) con un tiempo de evolución de hasta 10 años que acudieron a la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. Se consideró 20 individuos aparentemente sanos como grupo control, con edades comprendidas entre 30 y 60 años de edad. La clasificación de los grupos en estudio (diabéticos tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos) se realizó de acuerdo con los valores obtenidos en la determinación de glicohemoglobina, expresados en porcentaje (%).

A cada individuo que participó se le solicitó la declaración de consentimiento válido (Anexo 1), la cual especifica su aceptación voluntaria para formar parte de la investigación. La obtención de los datos personales, clínicos e información general, se obtuvo mediante una encuesta que se le realizó a cada individuo participante. En el anexo 2 se incluye la copia de la encuesta de forma detallada.

Criterios de exclusión

Se excluyeron de este trabajo de investigación aquellos individuos que presentaron DM1, evidencias clínicas o analíticas de enfermedades hepáticas, renales, con antecedentes de gota, así como cualquier otra enfermedad que pudiera interferir. Además, se excluyeron aquellos sueros con hemólisis e ictericos, ya que podían arrojar resultados poco confiables durante el curso del estudio.

Normas de bioética

La presente investigación se llevó a cabo tomando en cuenta las normas de bioética establecidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para trabajos de investigación en humanos y la declaración de Helsinki; documentos que han ayudado a

establecer los principios de la ética correspondientes a la investigación biomédica, promulgada por el Consejo de Organizaciones Internacionales de Ciencias Médicas. A los individuos que decidieron participar, se les informó sobre los alcances y objetivos de la presente investigación, así como de las ventajas de su inclusión en la misma (22,23).

Obtención y procesamiento de las muestras

La obtención de muestras sanguíneas se realizó a través de punción venosa. Comúnmente, para este tipo de punción se utilizan las venas ubicadas en la región antecubital (basílica, mediana basílica, cefálica, mediana cefálica) y dorso de la mano. Se extrajeron 10 ml de sangre completa en ayunas, a los individuos a estudiar; para esto se utilizaron jeringas descartables, previa asepsia, de la cual se transfirieron 5 ml a tubos de ensayos estériles y secos sin anticoagulante y 2,5 ml a tubos de ensayos con anticoagulante; sal disódica del ácido-etilen-diamino-tetra-acético (EDTA) (se utilizaron 2 tubos para cada individuo).

Para la determinación de la glicemia, perfil lipídico y ácido úrico se procedió a la obtención del suero sanguíneo, a través de centrifugación a 1 100 g durante 10 minutos; luego, se separó el suero de los elementos formes de la sangre mediante aspiración con pipetas Pasteur y se colocaron en tubos de ensayos secos y estériles, previamente identificados con los datos correspondientes a cada paciente, siendo procesados inmediatamente. Para el análisis de la hemoglobina glicosilada se utilizó sangre completa con anticoagulante EDTA. Los glóbulos rojos inmersos en la malla de fibrina del coágulo sobrante en el tubo seco, se utilizaron para la determinación de GSH.

La actividad de la CAT se evaluó en sangre completa. La peroxidación lipídica (MDA) se llevó a cabo extrayendo el plasma sanguíneo mediante la centrifugación de la sangre anticoagulada a 1 100 g durante 10 minutos, separando el plasma con pipetas

Pasteur y colocándolo en tubos de ensayo estériles y secos, seguidamente se identificaron las muestras y luego se procesaron.

Determinación sérica de glucosa

La glucosa sérica fue determinada por el método enzimático-colorimétrico de la glucosa oxidasa, el cual se fundamenta en el empleo de glucosa oxidasa que cataliza la oxidación de la glucosa a peróxido de hidrógeno y ácido glucónico y una modificación de la reacción de color trinder catalizada por la enzima peroxidasa. En presencia de peroxidasa, la 4-aminoantipirina e hidroxibenzoato es oxidado por el peróxido de hidrógeno para dar una coloración roja de quinoneimina. La intensidad de color de la reacción es proporcional a la concentración de glucosa en la sangre (24).

Valores de referencia: 70 – 105 mg/dl.

Determinación de glicohemoglobina

La determinación de esta proteína se llevó a cabo mediante la determinación cuantitativa de glicohemoglobina en sangre total por resina de intercambio catiónico. El hemolizado preparado de sangre total se mezcló continuamente por 5 minutos con la resina, durante ese tiempo la glicohemoglobina se une con la resina. Luego, se utilizó un filtro que separó el sobrenadante que contiene la glicohemoglobina de la resina. El porcentaje de la glicohemoglobina se determinó por las medidas de las absorbancias, tanto de la fracción de glicohemoglobina, como de la fracción total de hemoglobina a una longitud de onda de 415 nm y comparada contra un patrón (25).

Valores de referencia: 6,0 – 8,3%.

Determinación sérica de colesterol total

La determinación sérica del colesterol total se realizó siguiendo el método enzimático de la colesterol esterasa, el cual se fundamenta en que los ésteres de colesterol son hidrolizados a colesterol libre por la acción de la colesterol esterasa. El colesterol libre es oxidado específicamente, por la colesterol oxidasa con producción de

peróxido de hidrógeno (H₂O₂), el cual oxida al cromógeno 4-aminoantipirina fenazona-7-fenol (4- AAP7fenol) para producir un compuesto coloreado que se mide a 500 nm mediante una reacción catalizada por la peroxidasa, donde la intensidad de color será proporcional a la concentración de colesterol presente en la muestra (26).

Valores de referencia: normal < de 200 mg/dl.

Determinación sérica de HDL – colesterol

El HDL-colesterol se determinó utilizando el método de precipitación. Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) se separaron precipitando, selectivamente, la lipoproteínas de baja y muy baja densidad (LDL y VLDL) mediante el agregado de sulfato de dextrán (masa molar 50 000), en presencia de iones de Mg²⁺. El colesterol en la fracción HDL que queda en el sobrenadante se analiza empleando el sistema enzimático colesterol oxidasa/peroxidasa con colorimetría según trinder (fenol/4-aminofenazona) (26).

Valores de referencia: 40 – 60 mg/dl.

Determinación sérica de LDL – colesterol

Se determinó mediante la siguiente fórmula, que puede estimar el contenido de LDL sustrayendo del valor de colesterol total, el valor de HDL- colesterol 1/5 del valor de los triglicéridos totales (26).

LDL Colesterol = colesterol total - VLDL - colesterol HDL

Valores de referencia: < 150 mg/dl.

Determinación sérica de VLDL – colesterol

Se calculó a través del método indirecto, dividiendo el valor de los triglicéridos séricos por un factor 5, debido a que la relación triglicéridos y VLDL es constante (1:5).

VLDL= triglicéridos / 5

Valores de referencia: 10 – 36 mg/dl (26).

Determinación sérica de triglicéridos

La determinación sérica de triglicéridos se realizó según el método enzimático glicerol oxidasa, en el cual los triglicéridos son hidrolizados a ácidos grasos y glicerol, por la acción de la lipasa. El glicerol es fosforilado a glicerofosfato por la glicerolkinasa y luego, oxidado a dihidroxiacetona-fosfato por acción de una oxidasa con producción de peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Este último, oxida a cromógeno 4-aminoantipirina/diclorofenol (4AAP/diclorofenol) para producir un compuesto coloreado medido a 500 nm, mediante una reacción catalizada por la peroxidasa, la intensidad del color es proporcional a la concentración de triglicéridos presente en la muestra (26).

Valores de referencia: 70 – 170 mg/dl.

Determinación de peroxidación lipídica

La peroxidación lipídica se determinó empleando la técnica fotolorimétrica para la determinación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), que mide los niveles de MDA como uno de los productos principales del proceso, formados a partir de la descomposición de hidroperóxidos generados de la peroxidación lipídica, lo cual es utilizado como indicador del daño de RL y por ende, de EROs. El MDA puede reaccionar con el ácido tiobarbitúrico (TBA) formando un cromógeno estable, TBA-MDA-TBA, en presencia de un pH ácido (1,5-3,0), influenciados por una solución ácida (ácido clorhídrico 1 mol/l, ácido tricloroacético al 12,5% p/v), teniendo una absorbancia máxima de 532 nm. Los niveles de peroxidación lipídica se reflejaron por los niveles de MDA.

Se tomaron 500 μ l de plasma, homogenizándose en frío con 500 μ l de solución salina al 9% por 1 minuto, utilizando el homogeneizador Politron modelo HP y luego, se centrifugó a 3 000 g por 10 minutos. Se tomaron 250 μ l del sobrenadante y se colocaron en tubos de Eppendorf de 1,5 ml de capacidad; posteriormente, se incubaron en baño de agua a 37°C por 10 minutos con agitación constante. Seguidamente, los tubos fueron colocados en un baño con hielo por 20 minutos para detener la reacción y se adicionó a cada tubo 250 μ l de una solución fría de parada (ácido tricloroacético al 12,5% (p/v) en 100 ml ácido clorhídrico 1 mol/l). Adicionalmente, se agregaron 500 μ l de solución de TBA al 1%, se agitaron y se colocaron en baño de agua a 90°C con agitación constante durante 45 minutos para acelerar la disolución. Después, fueron colocados nuevamente en baño de hielo por 10 minutos para enfriarlos; luego, se centrifugaron a 1 500 g durante 10 minutos a 4°C, en una centrifuga refrigerada Sorvall RC2-B. El sobrenadante fue leído en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 532 nm, contra un blanco constituido por todos los reactivos, a excepción de la muestra.

Las concentraciones de MDA se calcularon mediante el uso de una curva de calibración, la cual se construyó empleando diluciones de concentraciones conocidas (0-200 μ g/ml de MDA) preparadas a partir de un estándar de 20 mmol/l de MDA. Los resultados fueron expresados en nmol/l (27).

Determinación enzimática de la catalasa (CAT)

Para la reacción de la catalasa se utilizó un método por titulación, el cual consistió en medir el H₂O₂ no metabolizado, mediante titulación por permanganato de potasio (KMnO₄) después de incubar la enzima en presencia de un exceso de H₂O₂, dejándose actuar la enzima sobre una solución de peróxido durante 3 minutos para finalmente, detener la reacción añadiendo ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado que destruye la enzima.

Para la realización del método se utilizó como fuente de enzima una dilución de sangre completa (anticoagulada) 1:100 (125 μ l de sangre en 12,5 ml de buffer fosfato de concentración 0,05 mol/l y pH 7,2).

Se prepararon 3 beakers que contenían una mezcla de 3 ml de agua destilada, 5 ml de buffer fosfato y 1 ml de la muestra de sangre diluida que se dejaron a temperatura ambiente. Transcurridos 5 minutos, se añadió a cada beaker 1 ml de H_2O_2 de concentración 3% v/v. Después de 3 minutos se detuvo la reacción con 5 ml de H_2SO_4 (5 mol/l) para inactivar el catalizador. Luego, a cada mezcla se le agregaron 2 gotas del indicador cloruro de manganeso ($MnCl_2$), seguidamente, se tituló el contenido de cada muestra con $KMnO_4$ hasta obtener un color rosa pálido, este es el punto final. Los resultados fueron expresados en U/ml (28).

Determinación de glutatión (GSH)

La determinación de la concentración de GSH fue llevado a cabo de acuerdo al siguiente procedimiento, para los cuales se prepararon 2 soluciones: una solución precipitante: 1,67 g de ácido metafosfórico glacial (mezcla HPO_3 y $NaPO_3$); 0,2 g de EDTA y 30 g de NaCl en 100 ml de agua destilada y la segunda solución, un reactivo DTNB: 5,5' - dithiobis (2-ácido nitrobenzoico) al 0,4% en buffer fosfato, pH 7,5.

Para precipitar las muestras, se mezclaron 200 μ l de glóbulos rojos en 1,8 ml de agua destilada y 3 ml de la solución precipitante, agitándolas por inversión y dejándolas en reposo por un tiempo de 5 minutos. Posteriormente, se tomaron 1,5 ml de la mezcla, colocándolas en tubos de Eppendorf y centrifugándose a 6 000 g por 15 minutos. Luego, 500 μ l del sobrenadante se añadieron en 2 ml de buffer fosfato y 250 μ l del reactivo DTNB. Se preparó un blanco del reactivo con 2 ml de buffer fosfato, 500 μ l de la solución precipitante diluida (2 a 3 partes de agua destilada) y 250 μ l del reactivo DTNB. La concentración de GSH fue medida inmediatamente en un espectrofotómetro a una absorbancia de 412 nm. La estandarización del método se realizó con glutatión GSH (Sigma). Los resultados se expresaron en mmol/ml de GR (29).

Determinación sérica de ácido úrico (AU)

La determinación sérica de ácido úrico, se llevo a cabo mediante el uso del método colorimétrico uricasa/peroxidada, el cual se fundamenta en que el AU es oxidado por la acción de la uricasa, en alantoína y peróxido de hidrógeno. En presencia de peroxidada la mezcla de diclorofenol sulfonato (DCFS) y 4-aminoantipirina (4-AA) se condensan por acción del peróxido de hidrógeno, formando una quinonaimina coloreada proporcional a la concentración de ácido úrico en la muestra, con un máximo de absorción de 520 nm, (19).

Valores de referencia: (hombres) 2,5 – 6,0 mg/dl

(mujeres) 2,4 – 5,7 mg/dl.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos en la investigación fueron sometidos a una prueba no paramétrica Kruskal-Wallis (Kw), con un nivel mínimo de confiabilidad del 95%, previa determinación de homogeneidad de varianzas. Además, se aplicó una correlación de Spearman entre las variables para establecer asociación entre los niveles de glicemia con los parámetros evaluados. Los resultados fueron expresados en gráficos de caja y bigote, los cuales expresan la muesca de la mediana y el rango de los datos (30).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de glucosa sérica en ayunas en los tres grupos estudiados, revelan diferencias altamente significativas ($p < 0,001$), donde los valores glicémicos se observan más elevados en los diabéticos tipo 2 no controlados al compararse con los diabéticos controlados y los individuos aparentemente sanos, los cuales muestran valores referenciales (Figura 1).

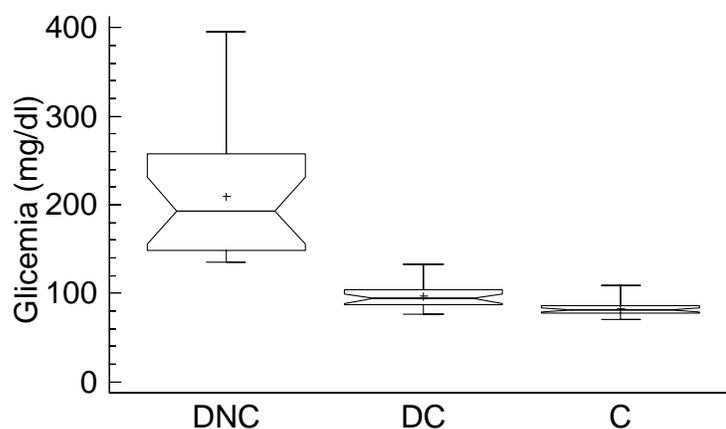


Figura 1. Niveles de glucosa sérica (mg/dl) en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos que asistieron a la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. $K_w = 1,45$, $p < 0,001$.

DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados y C: individuos sanos.

Estos resultados tienen similitud con los encontrados en el 2001, en un trabajo de investigación realizado en Caracas, en el cual se encontró que los niveles de glicemia basal fueron significativamente mayores en diabéticos sin control al compararlos con sujetos sanos y diabéticos controlados (31).

La hiperglicemia en la DM conduce a complicaciones en los pequeños vasos sanguíneos (microangiopatías), particularmente de retina, glomérulo renal y neuropatía. Estas complicaciones ocasionadas por el metabolismo anormal debido a la diabetes, se pueden retardar teniendo un control metabólico del paciente, es decir, disminuyendo las

altas concentraciones de glicemia, por lo que se deben conocer las diferentes variaciones de glucosa sanguínea durante el mayor tiempo posible, ésto se logra estimar mediante el método de la hemoglobina glicosilada (32).

En los resultados obtenidos en el presente estudio, en relación a la hemoglobina glicosilada, evidencian que existen diferencias altamente significativas ($p < 0,001$), apreciándose que los niveles más elevados del porcentaje de glicohemoglobina corresponden a los diabéticos tipo 2 sin control metabólico, en comparación con los diabéticos controlados e individuos sanos (Figura 2).

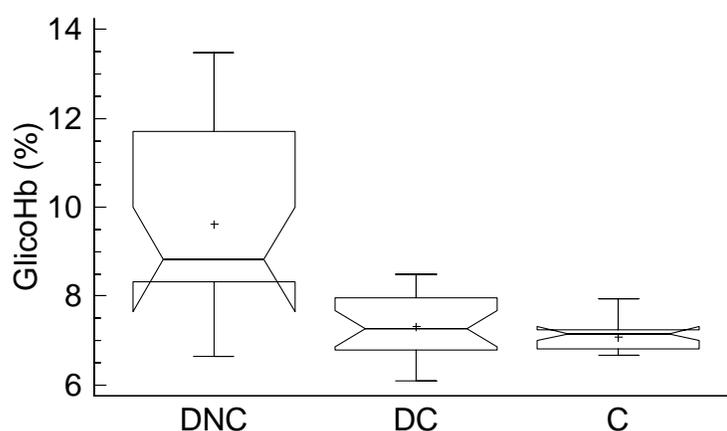


Figura 2. Niveles de hemoglobina glicosilada (%) en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos que asistieron a la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. $K_w = 0,0000031$, $p < 0,001$. GlicoHb: hemoglobina glicosilada; DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados y C: individuos sanos.

Los pacientes pobremente controlados poseen mayor porcentaje de hemoglobina glicosilada, exhibiendo aumento en la actividad de radicales libres, en comparación con los diabéticos metabólicamente controlados (% de glicohemoglobina disminuidos) y con individuos sanos. Este hallazgo podría evidenciar que el buen control metabólico puede producir la protección existente contra radicales libres (25).

Los valores de colesterol total en los pacientes diabéticos tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos (Figura 3), indican diferencias altamente significativas ($p < 0,001$), donde los individuos sanos presentaron los valores más bajos de colesterol en

suero, mientras que los dos grupos de diabéticos presentaron los valores más altos, siendo este aumento más acentuado en los del grupo sin control glicémico.

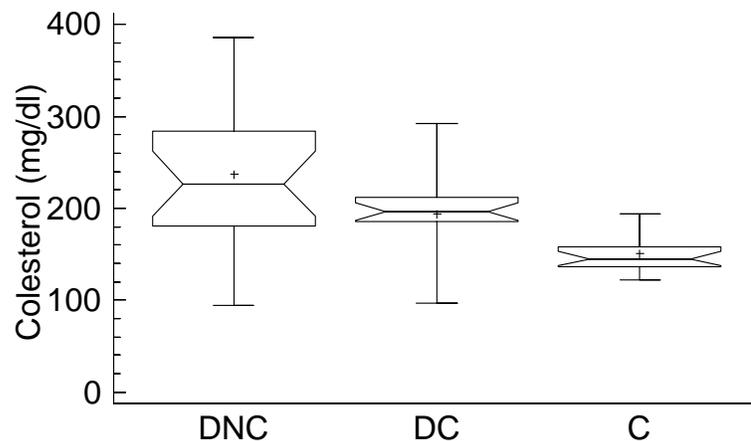


Figura 3. Niveles de colesterol total (mg/dl) en suero de pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 no controlados, controlados en individuos sanos que asistieron a la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. $K_w=0,0000075$, $p<0,001$. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados y C: individuos sanos.

En investigación anterior se estableció que, en los pacientes diabéticos los niveles de colesterol total en suero son superiores a los referenciales, ésto debido a que en ellos existe una movilización de grasas mayor a causa de la falta de utilización de glucosa como fuente de energía (33).

Es bien conocido que los indicadores del perfil lipídico se encuentran muy estrechamente relacionados con otros parámetros de DM2. Esta relación determina el riesgo de aterosclerosis y enfermedad vascular e incluye a los pacientes con diagnóstico reciente de esta enfermedad, en los cuales la afectación de la capa íntima y media de la carótida común se relaciona con los niveles de colesterol total y la aparición de varias complicaciones (34).

En cuanto a los niveles de HDL-C en suero entre los dos grupos de diabéticos e individuos sanos, los resultados indican que existen diferencias estadísticas altamente significativas (Figura 4).

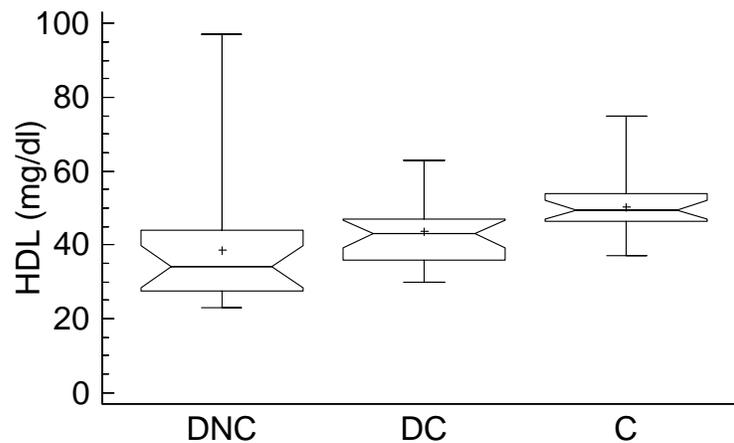


Figura 4. Niveles de HDL-C (mg/dl) en suero de pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos que asistieron a la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. $K_w = 0,00031$, $p < 0,001$. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados y C: individuos sanos.

En los diabéticos las dificultades metabólicas promueven el catabolismo de las proteínas ya existentes, pero disminuyen la formación de más de ellas, decreciendo su disponibilidad, por lo que, tomando en cuenta la gran cantidad de proteínas que contienen las lipoproteínas de alta densidad, seguidas de colesterol y triglicéridos, su elaboración se dificulta y se traduce en una disminución de los valores de HDL-C (33).

Las HDL-C pueden experimentar glucosilación y oxidación, lo que permite que pierdan su habilidad de captar el colesterol de los tejidos periféricos por deterioro de su capacidad para unirse a receptores y/o de depurar los ésteres de colesterol de los macrófagos (26).

Con respecto a los valores de LDL-C en suero de los pacientes diabéticos tipo 2, no controlados y controlados e individuos sanos, los resultados indican que existen diferencias altamente significativas ($p < 0,001$) entre los tres grupos según su condición, donde los individuos sanos presentaron el valor promedio más bajo, mientras que los diabéticos no controlados mostraron el más alto y los diabéticos controlados se

observaron con valores promedios intermedios a los grupos antes mencionados (Figura 5).

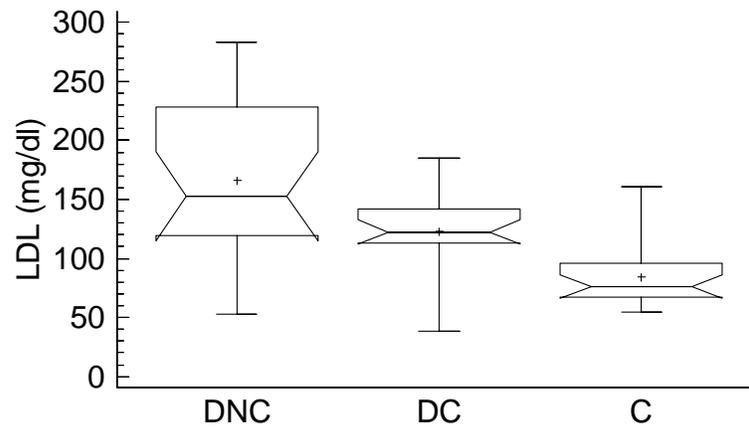


Figura 5. Niveles de LDL-C (mg/dl) en suero de pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos que asistieron a la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. $K_w = 0,000068$, $p < 0,001$. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados y C: individuos sanos.

En la dislipidemia diabética existe predominio de partículas pequeñas y densas de lipoproteínas de baja densidad (LDL-C) que son LDL modificadas por oxidación y glucosilación, con gran poder aterogénico. Estas alteraciones se presentan en muchos pacientes diabéticos, incluso a pesar de niveles de LDL-C normales (35).

Los reportes bibliográficos más actuales concentran su atención en las modificaciones estructurales que tiene lugar en las LDL, como consecuencia de la hiperglicemia sostenida. Debido a estas transformaciones, las LDL no son reconocidas por el receptor celular, se mantienen más tiempo en circulación, se incrementa su ingreso a través del endotelio vascular, aumentan la fagocitosis y el depósito de colesterol en la íntima arterial, determinando un aumento de su aterogenicidad (26).

Los valores de VLDL-C en suero para los pacientes diabéticos tipo 2 e individuos sanos, demuestran diferencias altamente significativas ($p < 0,001$) entre los grupos en estudio. El grupo de individuos sanos presentó el valor promedio más bajo, mientras que

los diabéticos no controlados y controlados mostraron los más altos, acentuado dicho incremento en aquellos sin control glicémico (Figura 6).

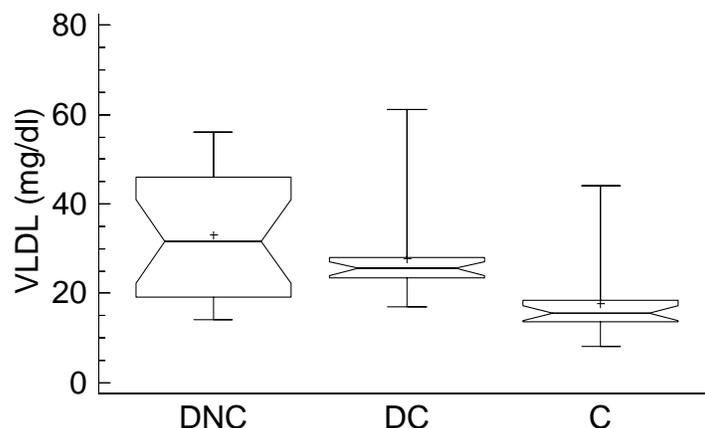


Figura 6. Niveles de VLDL-C (mg/dl) en suero de pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos que asistieron a la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. $K_w=0,000083$, $p<0,001$. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados y C: individuos sanos.

Los pacientes diabéticos generalmente, presentan mayor cantidad de VLDL-C, influenciado por el aumento de triglicéridos en suero, producto de la alteración metabólica de los requerimientos energéticos establecidos; tal incremento facilita la formación de lipoproteínas de muy baja densidad, ya que están compuestos principalmente por triglicéridos con pequeñas cantidades de colesterol, fosfolípidos y proteínas. Las personas con DM2 al presentar niveles basales elevados de VLDL-C, tienen un alto riesgo de presentar una lipemia prolongada y mayor (36,37).

En cuanto a los niveles séricos de triglicéridos para los grupos en estudio (Figura 7), los resultados indican diferencias altamente significativas ($p<0,001$) entre los pacientes según su condición; los individuos sanos presentaron los valores más bajos, mientras que los diabéticos sin control poseen los valores más altos y los diabéticos con control glicémico muestran valores intermedios respecto a los dos grupos antes mencionados (sanos y diabéticos sin control). En los diabéticos, este parámetro (triglicéridos) suele estar elevado, ya que por efecto de la deficiencia de insulina, se

produce una intensa activación de la lipasa tisular que promueve la salida de los ácidos grasos desde el tejido adiposo hasta la circulación sanguínea (33).

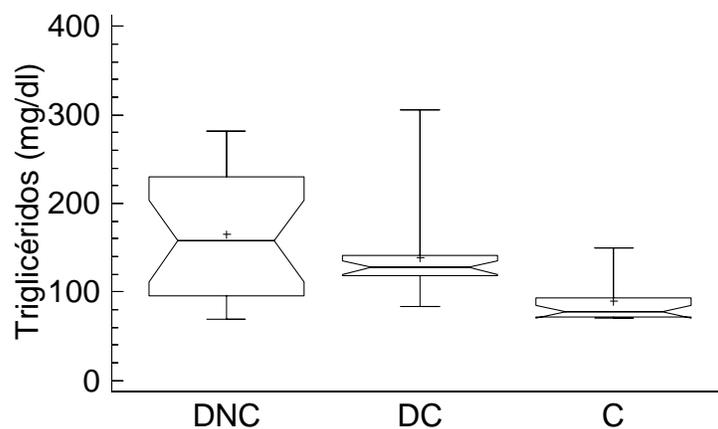


Figura 7. Niveles de triglicéridos (mg/dl) en suero de pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos que asistieron a la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. $K_w=0,000077$, $p<0,001$. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados y C: individuos sanos.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos en otro trabajo de investigación, que señala elevada producción de triglicéridos y de VLDL-C acompañada de insuficiencia relativa de insulina, lo cual podría ser causa de deficiencia en la actividad de la lipoproteinlipasa (LPL), lo que explica la inducción de esta enzima por insulina (38).

En relación al parámetro MDA, utilizado como indicador de peroxidación lipídica, a través del TBARS, se observan diferencias altamente significativas ($p<0,001$), evidenciándose que los diabéticos no controlados poseen los valores más altos en comparación con los diabéticos controlados e individuos sanos (Figura 8).

Existe una importante relación entre los niveles de MDA y el pobre control metabólico, lo que apoya que el estrés oxidativo está muy influenciado por el control metabólico tanto en pacientes con DM1 o DM2. Cuando mejora el control glicérico en

pacientes con DM2, disminuyen los parámetros de oxidación, tales como las sustancias reactivas con el ácido tiobarbitúrico (39).

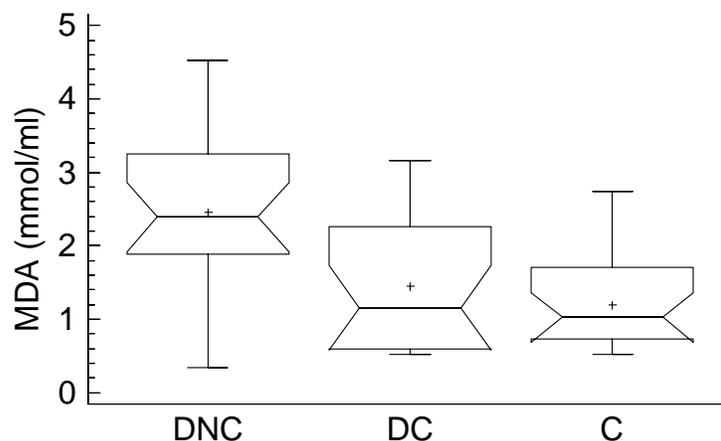


Figura 8. Niveles de MDA (nmol/ml) en plasma de pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos que asistieron a la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. $K_w = 0,00036$ $p < 0,001$. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados y C: individuos sanos.

En este trabajo además de los parámetros antes mencionados, también se determinaron antioxidantes enzimáticos (CAT) y no enzimáticos (GSH y AU) como indicadores que contribuyan a la determinación del grado oxidativo presente en los pacientes con DM2.

En relación a los valores obtenidos en la determinación de la actividad en la enzima catalasa, no se encontraron diferencias significativas en los tres grupos de estudio ($p > 0,05$); sin embargo, es importante señalar que la tendencia del incremento de esta enzima se observa en los diabéticos tipo 2 (no controlados y controlados) con respecto a los individuos sanos, inclinándose el aumento en los diabéticos controlados (Figura 9).

En esta investigación a pesar de no obtenerse diferencias significativas, la tendencia del incremento en los grupos experimentales, se demostró en una investigación anterior, encontrándose un aumento de la enzima en ratas diabéticas con respecto a los controles, lo cual demuestra que la CAT en los pacientes diabéticos no

controlados y controlados se debe a altas concentraciones de H_2O_2 , el cual provoca una estimulación marcada de la misma (9,40).

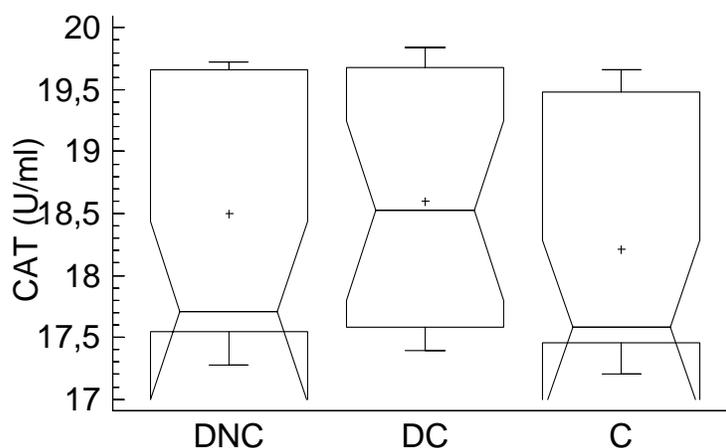


Figura 9. Actividad enzimática de la catalasa (U/ml) en sangre completa de pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2, no controlados, controlados e individuos sanos que asistieron a la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. $K_w = 0,11$ $p > 0,05$. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados y C: individuos sanos.

En las concentraciones de GSH obtenidas en los pacientes diabéticos tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos, se observan diferencias altamente significativas ($p < 0,001$) apreciándose una disminución de dicho parámetro en los pacientes diabéticos, siendo más notable en los no controlados, los valores más altos se evidencian en los individuos sanos (Figura 10).

Se ha demostrado la asociación de las elevadas concentraciones de glucosa sanguínea a valores disminuidos de glutatión reducido (GSH) y elevadas de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (6,41). En la hiperglicemia el incremento de las especies reactivas del oxígeno, contribuye a la reducción de GSH, debido a que éste actúa para contrarrestar el daño oxidativo que provoca la excesiva acumulación de EROs. Además, se ha evidenciado que en la diabetes existe alteración de enzimas antioxidantes tales como, glutatión peroxidasa y glutatión reductasa, que contribuyen aun más en la acumulación de EROs en los tejidos provocando oxidación de lípidos, proteínas y ADN.

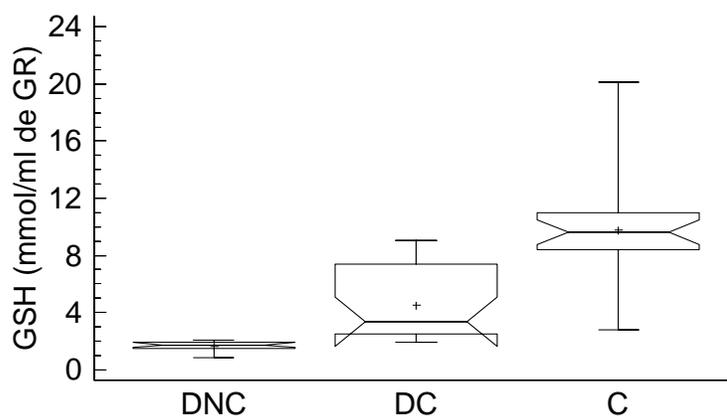


Figura 10. Niveles de GSH en GR (mmol/ml de GR) de pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos que asistieron a la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. $K_w=6,21$ $p<0,001$. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados y C: individuos sanos.

Los niveles de AU sérico obtenidos en esta investigación, presentaron diferencias muy significativas ($p<0,01$) entre los tres grupos en estudio, donde los valores de AU sérico elevados corresponden a los pacientes diabéticos tipo 2 (no controlados y controlados) al ser comparados con los resultados arrojados en los individuos sanos (Figura 11).

En este estudio se observa que los pacientes diabéticos están sometidos a un estrés oxidativo, reflejado por el aumento de MDA, disminución de GSH y elevación de AU sérico, éste último quizás este actuando como un mecanismo de defensa frente al daño oxidativo, debido a que posee un espectro amplio siendo capaz de quelar radicales libres, iones metálicos tales como el hierro y el cobre, inhibir el daño producido por el peroxinitrito (radical libre altamente reactivo) y actuar como una sustancia oxidable capaz de aceptar electrones (20).

Por otra parte, se ha demostrado en análisis realizados que la prevalencia del síndrome metabólico se incrementa considerablemente con el aumento de los niveles de urato sérico, en los sujetos con síndrome metabólico, la hiperuricemia parece secundaria a la disminución en la excreción de AU. Este hecho fisiopatológico se ha relacionado

con aumento de la reabsorción de sodio en el túbulo proximal, mediado por la hiperinsulinemia (42,43).

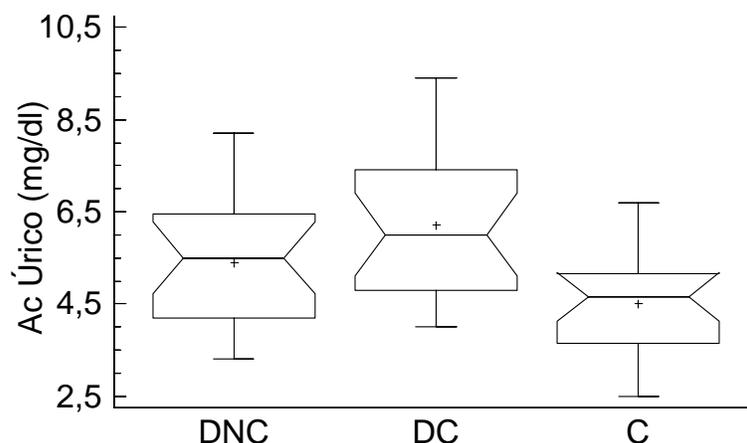


Figura 11. Niveles de ácido úrico sérico (mg/dl) en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos que asistieron a la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. $K_w=0,0031$ $p<0,01$. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados y C: individuos sanos.

Una vez analizados los parámetros, se aplicó la correlación de Spearman entre las variables, para establecer posibles asociaciones con los niveles de glicemia (Tabla 1). Se puede observar la asociación negativa que existe con respecto al ácido úrico en los pacientes sin control glicémico. Además, existe asociación con los niveles de hemoglobina glicosilada en los diabéticos sin control y en los individuos sanos; en este último caso, a pesar de que los niveles de glicemia se encuentran dentro sus límites normales, ocurre la glicosilación, pero enmarcada dentro sus parámetros adecuados.

Los resultados obtenidos en la presente investigación demuestran alteración metabólica en los pacientes diabéticos, causada por desbalance en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas, acompañado de una disminución de los sistemas antioxidantes y un aumento en los niveles de ácido úrico sérico, este último probablemente este actuando como mecanismo compensatorio ante los daños oxidativos reflejados por un aumento en la peroxidación lipídica de esta patología. Por otro lado, la

alteración presente en estos pacientes, es más acentuada en los diabéticos sin un control de glicemia, lo cual conlleva a que este tipo de paciente sea más susceptible al desarrollo de enfermedades degenerativas como Alzheimer, cáncer, accidentes cerebro vasculares, aterosclerosis, entre otros, que en muchos casos ocasionan la muerte.

Tabla 1. Asociación entre los niveles de glicemia y las variables estudiadas en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2, no controlados, controlados e individuos controles que asistieron a la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. Fs; Fisher; P: probabilidad; Ns: no significativo; *: diferencias significativas (relación); DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados; C: individuos sanos.

VARIABLES	DNC	DC	C
Colesterol	Fs: 0,2384 ^{NS} P: 0,2987	Fs: 0,0425 ^{NS} P: 0,8529	Fs: 0,3541 ^{NS} P: 0,1227
Triglicéridos	Fs: 0,2600 ^{NS} P: 0,2571	Fs: 0,2662 ^{NS} P: 0,2459	Fs: -0,1253 ^{NS} P: 0,5849
HDL	Fs: -0,4084 ^{NS} P: 0,0751	Fs: 0,3879 ^{NS} P: 0,0909	Fs: 0,2594 ^{NS} P: 0,2581
VLDL	Fs: 0,2535 ^{NS} P: 0,2692	Fs: 0,2768 ^{NS} P: 0,2276	Fs: -0,1674 ^{NS} P: 0,4657
LDL	Fs: 0,2264 ^{NS} P: 0,3237	Fs: -0,0279 ^{NS} P: 0,9032	Fs: 0,1713 ^{NS} P: 0,4552
Ácido úrico	Fs: -0,6692* P: 0,0035	Fs: 0,0631 ^{NS} P: 0,7832	Fs: -0,1194 ^{NS} P: 0,6028
GSH	Fs: 0,3654 ^{NS} P: 0,1112	Fs: 0,0761 ^{NS} P: 0,7402	Fs: -0,0928 ^{NS} P: 0,6860
CAT	Fs: -0,1446 ^{NS} P: 0,5284	Fs: 0,0770 ^{NS} P: 0,7370	Fs: -0,1250 ^{NS} P: 0,5857
MDA	Fs: 0,3043 ^{NS} P: 0,1847	Fs: 0,3539 ^{NS} P: 0,1229	Fs: 0,1373 ^{NS} P: 0,5494
GlicoHb	Fs: 0,7409* P: 0,0012	Fs: 0,1227 ^{NS} P: 0,5928	Fs: 0,6937* P: 0,0025

CONCLUSIONES

Los pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 controlados y no controlados mostraron elevación de la peroxidación de membranas evaluados por la producción de MDA, mientras que los niveles de GSH disminuyen con respecto a los pacientes sanos.

Existe incremento en los niveles sérico de ácido úrico en los pacientes diabéticos no controlados y controlados con asociación negativa en los niveles de glicemia en estos últimos.

La actividad de la catalasa, aunque no evidencia diferencia significativa, tiende a ser más elevada en los pacientes diabéticos controlados o no.

Los niveles de glicemia y hemoglobina glicosilada presentan asociación en los diabéticos no controlados y pacientes sanos.

El metabolismo de los lípidos presenta alteración en los pacientes diabéticos, evidenciado por el aumento de los niveles séricos de colesterol, LDL, VLDL, triglicéridos y disminución en el HDL-colesterol.

RECOMENDACIONES

Se recomienda la determinación de hemoglobina glicosilada como parámetro rutinario en pacientes diabéticos, ya que en el presente trabajo y en otros estudios, se ha demostrado que constituye una de las mediciones más específicas para evaluar el control de la DM en el paciente y así, vigilar el grado de hiperglicemia en el diabético. Además, incrementar el uso de antioxidantes para evitar enfermedades degenerativas y disminuir complicaciones crónicas de los daños oxidativos en estos tipos de pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sánchez, M.; Osorio, E.; Vargas, L. y Mendoza, V. 2004. Propuesta de un constructor para evaluar integralmente el estrés oxidativo. *Bioquímica*, 29: 81-90.
2. Venereo, J. 2002. Daño oxidativo, radicales y antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 31: 126-133.
3. Valdez, A. y Mendoza, V. 2006. Relación del estrés oxidativo con la enfermedad periodontal en adultos mayores con diabetes mellitus tipo 2. *Revista ADM*, 5: 189-194.
4. Rosado, J.; Ortiz, R.; Osorio, E. y Mendoza, V. 2006. Influencia de la edad sobre el estrés oxidativo y proceso inflamatorio crónico en pacientes con diabetes tipo 2. *Congreso Nacional de Química Médica*. México.
5. García, M.; Aylwin, C.; Soto, N.; Carrasco, E.; Flores, J. y Jara, A. 2006. Ministerio de Salud: Guía clínica. *Serie de Guías Clínicas Minsal*. Primera edición. Chile.
6. Clapés, S.; Torres, O.; Companioni, M.; Villariño, U.; Broche, F. y Céspedes, E. 2001. Peroxidación lipídica y otros indicadores de estrés oxidativo en pacientes diabéticos. *Revista Cubana de Investigación Biomédica*, 20: 93-98.
7. Bravi, M.; Pietrangelli, P. y Laurenti, O. 1997. Polyol pathway activation and glutathione redox status in non insulina dependent diabetic patients. *Metabolism*, 46: 1194-1198.
8. Caimi, G. 2003. Diabetes mellitus: oxidative stress and wine. *Current Medical Research and Opinion*, 19: 581-586.
9. García, C.; Díaz, M. y Morales, F. 2005. Presencia de las especies reactivas de oxígeno en la diabetes mellitus insulino dependientes. *Avances en Diabetología*, 21: 145-148.
10. Obregón, O.; Lares, M.; Castro, J. y Garzazo, G. 2004. Potencial de oxidación de las lipoproteínas de baja densidad en una población normal y en una población con diabetes mellitus tipo 2. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 23: 1-6.
11. Licea, M. 2003. Concentraciones de malonildialdehído en un grupo de diabéticos tipo 1 con retinopatía diabética. *Avances en Diabetología*, 19: 95-99.
12. Actis, S. y Rebolledo, O. 2000. La glicación y glicoxidación de las lipoproteínas su

- importancia en la diabetes mellitus. *Medicina*, 60: 645-656.
13. Chihuailaf, R.; Contreras, P. y Wittwer, F. 2002. Patogénesis del estrés oxidativo: consecuencias y evaluación en salud animal. *Veterinaria México*, 33: 266-281.
 14. Matus, M.; Guinzberg, R.; Riveros, R. y Piña, Z. 2005. Movilización de glutatión total (GSH_t) en hepatocitos aislados. *Sociedad Mexicana de Bioquímica*, 14: 1-8.
 15. García, J. 2006. Estrés oxido-metabólico y afectación retiniana en DM e hipertensión arterial, seguimiento a 5 años. Tesis doctoral. Facultad de medicina y odontología. Universidad de Valencia, España.
 16. Villarán, R.; Quiroz, J.; Adrianzen, E.; Pérez, L.; Saldias, J.; Mendoza, J. y Monge, C. 2000. Niveles de ácido úrico en la altura y a nivel del mar. *Revista Médica Herediana*, 11: 7-14.
 17. Clapés, S.; Castillo, D.; Marquetty, A.; Lemani, M.; Márquez, I.; Díaz, D. y Companioni, M. 2006. Disminución de la capacidad antioxidante en niños y adolescentes diabéticos. *Revista Cubana de Investigación Biomédica*, 25: 112-117.
 18. Souki, A.; Cano, C.; Mengual, E.; García, D.; Almarza, J.; Urdaneta, Y.; León, L.; Chávez, Z.; Molero, E.; Medina, M. y Amell, A. 2007. Marcadores biológicos de estrés oxidativo. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 26: 1-10.
 19. Rosa, F.; Leal, E. y Uzcátegui, M. 2006. Ácido úrico: componente del riesgo cardiovascular en el síndrome metabólico. *Academia Bioética Digital*, 27: 1-9.
 20. Romanos, E.; Planas, A.; Amaro, S. y Chamorro, A. 2007. Uric acid reduces brain damage and improves the benefits of rt-PA in a rat model of thromboembolic stroke. *Journal of Blood Flow and Metabolism*, 27: 14-20.
 21. Kang, D.; Nakagawa, t. y Feng, L. 2002. A role for uric acid in the progression of renal disease. *Journal of the American Society of Nephrology*, 13: 2888-2997.
 22. Oficina Panamericana de la Salud. 1990. *Biometría: Boletín de la Oficina Panamericana de Salud*.
 23. Asociación Médica Mundial. 2004. Declaración de Helsinki de la asociación médica mundial. *Principios Éticos para las Investigaciones Médicas en Seres Humanos*. Asamblea General de la AMM, Tokio.
 24. Pacheco, L.; Piñeiro, R.; Fragoso, T.; Valdés, M. y Martínez, R. 2006. Hígado graso no alcohólico en niños obesos. *Revista Cubana de Pediatría*, 78: 56-61.

25. Guerra, M.; Alvarado, M.; Librada, D. y Torres, A. 2005. Relación entre la hemoglobina glicosilada, antioxidantes totales y la actividad de las enzimas superóxido dismutasa, glutatión peroxidada en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 controlados y no controlados en Bogotá. *Universitas Scientiarum, 10*: 81-89.
26. Guerra, M.; Luján, D.; Alvarado, M.; Moreno, D. y Silva, M. 2005. Estudio del perfil lipídico en sujetos con diabetes mellitus tipo 2 de Bogotá. *Universitas Scientiarum, 10*: 81-89.
27. Livingstone, D.; García, P.; Michel, X.; Narbone, J.; O Hara, S.; Ribera, D. y Winston, G. 1990. Oxyradical production as pollution-mediated mechanism of toxicity in the common mussel *Mytillus edulis* L; and other mollusks. *Functional Ecology, 4*: 415-424.
28. Rendina, G. 1974. *Técnicas de bioquímica aplicada*. Primera edición. Nueva editorial interamericana. S. A. México D.F
29. Beutler, E.; Duron, O. y Mikus, B. 1963. Improved method for determination of blood glutathione. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 61*: 882-888.
30. Sokal, R. y Rohlf, F. 1989. *Biometría: principios y métodos estadísticos en la investigación biológica*. Editorial H. Blume. Madrid, España.
31. Nuñez, R.; Socarras, E.; González, Z.; Chávez, J.; Ponce, C.; González, A. y Suárez, G. 2001. Determinación de agentes antioxidantes séricos en diabéticos tipo 2. *Medicina Interna, 4*: 1-10.
32. Bernard, J. 2001. *Clinical diagnosis and management by laboratory methods*. Vigésima edición. Editorial Saunders. Estados Unidos.
33. Acevedo, S. y Aguillón, R. 2004. Manejo de dislipidemia en pacientes diabéticos tipo 2. *MediUNAB, 20*: 35-40.
34. Dijk, J.; Bots, M.; Grobee, D. y Algira, A. 2006. Carotid intima-media thickness and the risk of new vascular events in patients with manifest atherosclerotic disease: the smart study. *European Heart Journal, 27*: 12-24.
35. Krentz, A. 2003. Lipoprotein abnormalities and their consequences for patients with type 2 diabetes. *Metabolism, 15*: 19-27.
36. Elbert, A. 2003. Actualización de las guías de tratamiento del paciente con diabetes en etapas de prediálisis, hemodiálisis, diálisis peritoneal y trasplante. *Revista Nefrológica de Diálisis y Trasplante, 2*: 41-48.

37. Lewis, G.; Solty, P. 1991. Fasting hypertriglyceridemia in noninsulin-dependent diabetes mellitus is an important predictor of postprandial lipid and lipoprotein abnormalities. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 72: 934-944.
38. Baynes, C. 1992. The response of hepatic lipase and serum lipoproteins to acute hyperinsulinemia in type 2 diabetes. *European Journal of Clinical Investigation*, 22: 341-346.
39. Erciyas, F. 2004. Glycemic control, oxidative stress and lipid profile in children with type 1 diabetes mellitus. *Archives of Medical Research*, 35: 134-140.
40. Rakesh, K.; Kalra, J., Mantha, S. y Prasad, K. 1995. Lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes in diabetic rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 151: 113-119.
41. Menon, V. 2004. Oxidative stress and glucose levels in a population-based sample. *Diabetic Medicine*, 21: 1346-1352.
42. Choi, H. y Ford, E. 2007. Prevalence of the metabolic syndrome in individuals with hyperuricemia. *American Journal of Medicine*, 120: 442-447.
43. Strazzullo, P.; Barbato, A.; Gallet, F.; Barba, G.; Sirani, A. y Iacone, R. 2006. Abnormalities of renal sodium handling in the metabolic syndrome. *Journal of Hypertens*, 24: 1633-1639.

APÉNDICES

Apéndice 1. Niveles de glucosa sérica en pacientes con diabetes tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos atendidos en la Unidad de Diabetes del hospital Dr. Julio Rodríguez. Cumaná, estado Sucre.

Grupos Exp.	X ± DE	Medianas	Mínimo	Máximo	KW
DNC	209,65 ± 70,35	193,00	135,00	395,00	1,45***
DC	96,25 ± 14,35	94,00	77,00	133,00	
C	82,35 ± 8,06	81,50	70,00	109,00	

X: media; DE: desviación estándar; KW: Test Kruskal-Wallis que compara las medianas; ***: diferencias altamente significativas. DNC: diabéticos no controlados. DC: diabéticos controlados. C: individuos sanos.

Apéndice 2. Niveles de hemoglobina glicosilada en pacientes con diabetes tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos atendidos en la Unidad de Diabetes del hospital Dr. Julio Rodríguez. Cumaná, estado Sucre.

Grupos Exp.	X ± DE	Medianas	Mínimo	Máximo	KW
DNC	9,60 ± 2,05	8,82	6,63	13,49	0,0000031***
DC	7,31 ± 0,77	7,26	6,09	8,49	
C	7,08 ± 0,32	7,15	6,67	7,94	

X: media; DE: desviación estándar; KW: Test Kruskal-Wallis que compara las medianas; ***: diferencias altamente significativas. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados; C: individuos sanos.

Apéndice 3. Niveles de colesterol total en suero de pacientes con diabetes tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos atendidos en la Unidad de Diabetes del hospital Dr. Julio Rodríguez. Cumaná, estado Sucre.

Grupos Exp.	X ± DE	Medianas	Mínimo	Máximo	KW
DNC	237,80 ± 75,14	227,00	94,00	386,00	0,0000075***
DC	194,30 ± 42,59	196,50	97,00	293,00	
C	150,55 ± 21,79	145,00	122,00	194,00	

X: media; DE: desviación estándar; KW: Test Kruskal-Wallis que compara las medianas; ***: diferencias altamente significativas. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados; C: individuos sanos.

Apéndice 4. Niveles de HDL - colesterol en pacientes con diabetes tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos atendidos en la Unidad de Diabetes del hospital Dr. Julio Rodríguez. Cumaná, estado Sucre.

Grupos Exp.	X ± DE	Medianas	Mínimo	Máximo	KW
DNC	38,55 ± 16,58	34,00	23,00	97,00	0,00031***
DC	43,75 ± 9,03	43,00	30,00	63,00	
C	50,40 ± 8,46	49,50	37,00	75,00	

X: media; DE: desviación estándar; KW: Test Kruskal-Wallis que compara las medianas; ***: diferencias altamente significativas. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados; C: individuos sanos.

Apéndice 5. Niveles de LDL - colesterol en pacientes con diabetes tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos atendidos en la Unidad de Diabetes del hospital Dr. Julio Rodríguez. Cumaná, estado Sucre.

Grupos Exp.	X ± DE	Medianas	Mínimo	Máximo	KW
DNC	166,13 ± 71,44	153,30	53,00	283,00	0,000068***
DC	122,88 ± 36,58	122,50	38,00	185,00	
C	84,12 ± 26,91	76,50	55,00	161,00	

X: media; DE: desviación estándar; KW: Test Kruskal-Wallis que compara las medianas; ***: diferencias altamente significativas. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados; C: individuos sanos.

Apéndice 6. Niveles de VLDL- colesterol en pacientes con diabetes tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos atendidos en la Unidad de Diabetes del hospital Dr. Julio Rodríguez. Cumaná, estado Sucre.

Grupos Exp.	X ± DE	Medianas	Mínimo	Máximo	KW
DNC	33,12 ± 15,08	31,40	14,00	56,00	0,000083***
DC	27,67 ± 9,56	25,50	17,00	61,00	
C	17,68 ± 8,62	15,50	8,00	44,00	

X: media; DE: desviación estándar; KW: Test Kruskal-Wallis que compara las medianas; ***: diferencias altamente significativas. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados; C: individuos sanos.

Apéndice 7. Niveles de triglicéridos en suero de pacientes con diabetes tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos atendidos en la Unidad de Diabetes del hospital Dr. Julio Rodríguez. Cumaná, estado Sucre.

Grupos Exp.	X ± DE	Medianas	Mínimo	Máximo	KW
DNC	165,60 ± 75,42	157,50	69,00	282,00	0,000077***
DC	138,45 ± 47,58	127,50	84,00	305,00	
C	89,05 ± 26,10	78,00	70,00	150,00	

X: media; DE: desviación estándar; KW: Test Kruskal-Wallis que compara las medianas; ***: diferencias altamente significativas. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados; C: individuos sanos.

Apéndice 8. Niveles de MDA en plasma de pacientes con diabetes tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos atendidos en la Unidad de Diabetes del hospital Dr. Julio Rodríguez. Cumaná, estado Sucre.

Grupos Exp.	X ± DE	Medianas	Mínimo	Máximo	KW
DNC	2,45 ± 1,03	2,39	0,34	4,53	0,00036***
DC	1,45 ± 0,91	1,15	0,51	3,16	
C	1,20 ± 0,61	1,03	0,51	2,73	

X: media; DE: desviación estándar; KW: Test Kruskal-Wallis que compara las medianas; ***: diferencias altamente significativas. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados; C: individuos sanos.

Apéndice 9. Niveles de la actividad enzimática de CAT en sangre completa de pacientes con diabetes tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos atendidos en la Unidad de Diabetes del hospital Dr. Julio Rodríguez. Cumaná, estado Sucre.

Grupos Exp.	X ± DE	Medianas	Mínimo	Máximo	KW
DNC	18,50 ± 1,06	17,71	17,28	19,72	0,11Ns
DC	18,60 ± 1,08	18,52	17,39	19,84	
C	18,21 ± 1,01	17,58	17,20	19,66	

X: media; DE: desviación estándar; KW: Test Kruskal-Wallis que compara las medianas; Ns: no significativo. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados; C: individuos sanos.

Apéndice 10. Niveles de GSH en GR de pacientes con diabetes tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos atendidos en la Unidad de Diabetes del hospital Dr. Julio Rodríguez. Cumaná, estado Sucre.

Grupos Exp.	X ± DE	Medianas	Mínimo	Máximo	KW
DNC	1,62 ± 0,38	1,73	0,82	2,07	6,21***
DC	4,50 ± 2,48	3,36	1,89	9,07	
C	9,78 ± 3,63	9,63	2,79	20,11	

X: media; DE: desviación estándar; KW: Test Kruskal-Wallis que compara las medianas; ***: diferencias altamente significativas. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados; C: individuos sanos.

Apéndice 11. Niveles séricos de ácido úrico en pacientes con diabetes tipo 2 no controlados, controlados e individuos sanos atendidos en la Unidad de Diabetes del hospital Dr. Julio Rodríguez. Cumaná, estado Sucre.

Grupos Exp.	X ± DE	Medianas	Mínimo	Máximo	KW
DNC	5,40 ± 1,36	5,50	3,30	8,20	0,0031**
DC	6,22 ± 1,57	6,00	4,00	9,40	
C	4,52 ± 1,11	4,65	2,50	6,70	

X: media; DE: desviación estándar; KW: Test Kruskal-Wallis que compara las medianas; **: diferencias muy significativas. DNC: diabéticos no controlados; DC: diabéticos controlados; C: individuos sanos.

ANEXOS

Anexo 1

CONSENTIMIENTO VÁLIDO

Bajo la coordinación del Prof. Daniel Belmar y la Dra. Mairin Lemus, se está realizando el proyecto de investigación titulado “VARIACIONES DEL METABOLISMO OXIDATIVO MEDIANTE NIVELES DE GLUTATIÓN, PEROXIDACIÓN LIPÍDICA, ÁCIDO ÚRICO Y LA ACTIVIDAD DE LA CATALASA EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 2 ATENDIDOS EN LA UNIDAD DE DIABETES DEL HOSPITAL DR. JULIO RODRÍGUEZ. CUMANÁ, ESTADO SUCRE”. Cuyo objetivo general es, evaluar las variaciones del metabolismo oxidativo mediante niveles de glutatión, peroxidación lipídica, ácido úrico y la actividad de la catalasa en pacientes con diabetes tipo 2, provenientes de la Unidad de Diabetes del Hospital Especial Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre teniendo como objetivos específicos: medir los niveles de glutatión, malonildialdehído, ácido úrico, actividad de la enzima catalasa, así como también los niveles de glicemia, hemoglobina glicosilada y perfil lipídico, estableciendo las posibles asociaciones de los parámetros determinados en pacientes con DM2 y en individuos sanos.

Yo: _____ C.I: _____
Nacionalidad: _____
Estado Civil: _____ Domiciliado en: _____

A través de la presente declaro que, siendo mayor de edad, en pleno uso de mis facultades mentales y sin obligación alguna, estoy en completo conocimiento de la naturaleza, duración y riesgos relacionados con el estudio indicado, por lo que reconozco:

1. Haber sido informado (a) de manera clara y sencilla por parte del grupo de investigadores de este Proyecto, de todos los aspectos relacionados con el proyecto de investigación titulado: “VARIACIONES DEL METABOLISMO OXIDATIVO MEDIANTE NIVELES DE GLUTATIÓN, PEROXIDACIÓN LIPÍDICA, ÁCIDO ÚRICO Y LA ACTIVIDAD DE LA CATALASA EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 2 ATENDIDOS EN LA UNIDAD DE DIABETES DEL HOSPITAL DR. JULIO RODRÍGUEZ. CUMANÁ, ESTADO SUCRE”.
2. Tener conocimiento claro de que el objetivo del trabajo antes señalado es evaluar las variaciones del metabolismo oxidativo mediante niveles de glutatión, peroxidación lipídica, ácido úrico y la actividad de la catalasa en pacientes con diabetes tipo 2, atendidos en la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre.
3. Conocer bien el Protocolo Experimental expuesto por el investigador, en el cual se establece que mi participación en este trabajo consiste en: donar de manera voluntaria una muestra de sangre mediante punción venosa, previa asepsia de la región anterior del antebrazo.

4. Que la muestra que acepto donar se utilizará única y exclusivamente para determinar marcadores enzimáticos del estrés oxidativo, ácido úrico, glicemia, hemoglobina glicosilada y perfil lipídico.
5. Que el personal que realiza esta investigación, me ha garantizado confiabilidad relacionada tanto a mi identidad como a cualquier otra información relativa a mi persona a la que tenga acceso por concepto de mi participación en el proyecto antes mencionado.
6. Que bajo ningún concepto podré restringir el uso para fines académicos de los resultados obtenidos para el presente estudio, que además podrá estar sujeto a publicaciones en revistas científicas.
7. Que mi participación en dicho estudio no implica riesgos e inconveniente alguno para mi salud.
8. Que cualquier pregunta que tenga en relación con este estudio me será respondida oportunamente por parte del equipo de personas antes mencionadas.
9. Que bajo ningún concepto se me ha ofrecido ni pretendo recibir beneficio de tipo económico producto de los hallazgos que puedan producirse en el referido Proyecto de Investigación.

DECLARACIÓN DEL VOLUNTARIO

Luego de haber leído, comprendido y aclaradas mis interrogantes con respecto a este formato de consentimiento y por cuanto a mi participación en este estudio es totalmente voluntaria, acuerdo:

1. Aceptar las condiciones estipuladas en el mismo y a la vez autorizar al equipo de investigadores a realizar el referido estudio en las muestras que acepto donar para fines indicados anteriormente.
2. Reservarme el derecho de renovar esta autorización y donación en cualquier momento sin que ello conlleve algún tipo de consecuencias negativa para mi persona.

Firma de voluntario: _____

Nombres y apellidos: _____

C.I: _____

Lugar: _____

Fecha: _____

DECLARACIÓN DEL INVESTIGADOR

Luego de haber explicado detalladamente al voluntario la naturaleza del protocolo mencionado, certifico mediante la presente que, a mi leal saber, el sujeto que firma este formulario de consentimiento comprende la naturaleza, requerimientos, riesgos y beneficios de la participación de este estudio. Ningún problema de índole médica de idioma o de instrucción ha impedido al sujeto tener clara comprensión de su compromiso con este estudio. Por el Proyecto de “variaciones del metabolismo oxidativo mediante niveles de glutatión, peroxidación lipídica, ácido úrico y la actividad de la catalasa en pacientes con diabetes tipo 2 atendidos en la Unidad de Diabetes del Hospital Dr. Julio Rodríguez. Cumaná, estado Sucre”.

Nombres: _____

Lugar y Fecha: _____

Anexo 2
ENCUESTA

Fecha:
Tesisista: Anarelys Lugo

Paciente N° _____

Datos Epidemiológicos

Nombres y Apellidos: _____

Edad: _____ Sexo: M () F ()

Dirección: _____

Teléfono: _____

Datos Clínicos

Edad del diagnóstico de la enfermedad _____

Tiempo de evolución de DMT2: _____

Desde su diagnóstico se ha controlado: Si () No () ¿Qué tratamiento utiliza?:

Padece de colesterol o triglicéridos elevado: Si () No () ¿Qué tratamiento recibe?:

Antecedentes Patológicos

Además de ser diabético padece de otra enfermedad: Si () No () Cuál(es)? :

Evaluación Física

Obesidad: Si () No ()

Peso: _____

Talla: _____

Cintrura: _____ Cadera: _____

PA sistólica _____ mmHg PA diastólica _____ mmHg

Antecedentes Familiares

Diabetes mellitus: Si () No ()

HTA: Si () No ()

Obesidad: Si () No ()

Enfermedad cardiovascular: Si () No ()

Factores de Riesgos

Consumo alcohol: Si () No () Frecuencia: _____

Fuma: Si () No () Frecuencia: _____

Cumple con la dieta recomendada por el médico: Si () No () Alimentos que habitualmente consume: _____

Realiza ejercicios: Si () No () Frecuencia: _____

Otros

Cuál fue el valor de glicemia obtenido en su último chequeo médico? _____

Nivel de glicemia capilar (momento de la encuesta): _____

HOJA DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/5

Título	VARIACIONES DEL METABOLISMO OXIDATIVO MEDIANTE NIVELES DE GLUTATIÓN, PEROXIDACIÓN LIPÍDICA, ÁCIDO ÚRICO Y ACTIVIDAD DE LA CATALASA EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 2 ATENDIDOS EN LA UNIDAD DE DIABETES DEL HOSPITAL DR. JULIO RODRÍGUEZ. CUMANÁ, ESTADO SUCRE
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
	Lugo P., Anarelys Del V.	CVLAC
e-mail		adv_lp@hotmail.com
e-mail		
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

Diabetes Mellitus
Estrés oxidativo
Radical libre
Antioxidante

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/5

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

Resumen (abstract):

Con la finalidad de evaluar las variaciones del metabolismo oxidativo mediante niveles de glutatión, peroxidación lipídica, ácido úrico y actividad de la enzima catalasa, se estudiaron 40 pacientes adultos de ambos sexos en edades comprendidas entre 30 y 60 años, con diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) (no controlados y controlados) con evolución de hasta 10 años, provenientes de la Unidad de Diabetes del hospital Dr. Julio Rodríguez de la ciudad de Cumaná, estado Sucre (grupo experimental) y 20 individuos adultos, aparentemente sanos (grupo control). Además, se determinaron los niveles de glicemia, hemoglobina glicosilada y perfil lipídico. Mediante la aplicación del análisis de Kruskal-Wallis en los tres grupos en estudios, se hallaron diferencias altamente significativas para la glicemia, hemoglobina glicosilada, perfil lipídico, glutatión reducido y malonildialdehído. Para el ácido úrico se encontraron diferencias muy significativas y no se hallaron diferencias significativas en la actividad de la enzima catalasa. Los pacientes diabéticos no controlados mostraron los valores más altos en los parámetros estudiados con una disminución de GSH, al compararse con los diabéticos controlados que presentaron patrones similares a los individuos sanos. Así mismo, para establecer las posibles asociaciones entre los niveles de glicemia con los parámetros evaluados se aplicó un análisis de correlación entre las variables, encontrándose asociación negativa con los niveles de ácido úrico en los diabéticos no controlados y asociación con los valores de hemoglobina glicosilada en diabéticos no controlados e individuos sanos. Los resultados obtenidos en el presente estudio permiten concluir que existen evidencias de que el estrés oxidativo se encuentra implicado en la DM2, acentuado en los diabéticos sin control de glicemia, lo que infiere que el buen control de la diabetes puede prevenir daño oxidativo y así mismo disminuir complicaciones en estos pacientes, evitando enfermedades degenerativas y el riesgo aterogénico que suelen presentarse en la enfermedad.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/5

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Belmar, Daniel	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input checked="" type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	8 642 075
	e-mail	belmarlc@cantv.net
	e-mail	
Lemus, Mairin	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/> A <input checked="" type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	6 429 405
	e-mail	mlemus88@gmail.com
	e-mail	
Millán, Gilda	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	4 692 369
	e-mail	gildamg@gmail.com
	e-mail	
Nusetti, Sonia	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	11 380 086
	e-mail	snusetti@yahoo.com
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2011	02	18

Lenguaje: spa

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/5

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis_LugoA.doc	Aplication/ Word.doc

Alcance:

Espacial: Universal

Temporal: Intemporal

Título o Grado asociado con el trabajo: Licenciado en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciatura

Área de Estudio: Bioanálisis

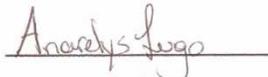
Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

Universidad de Oriente

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/5

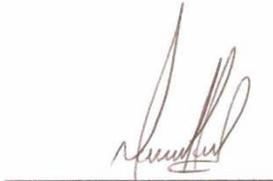
Derechos:

El autor garantiza en forma permanente a la Universidad de Oriente el derecho de archivar y difundir, por cualquier medio, contenido de esta tesis. Esta difusión será con fines estrictamente científicos y educativos, pudiendo cobrar a la Universidad de Oriente una suma destinada a recuperar parcialmente los costos involucrados. El autor se reserva los derechos de propiedad intelectual así como todos los derechos que pudieran derivarse de patentes industriales o comerciales.



Autor

Lugo P.; Anarelys Del V.



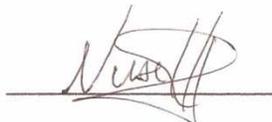
**Asesor
Belmar, Daniel**



**Coasesora
Lemus, Mairin**



**Jurado
Millán, Gilda**



**Jurado
Nusetti, Sonia**

POR LA SUBCOMISIÓN DE TESIS: