

Universidad de La Habana
Instituto Nacional de Endocrinología

ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO EN EL PACIENTE DIABÉTICO INSULINODEPENDIENTE CON RETINOPATÍA DIABÉTICA

Dra. Mercedes Mamposo Solano,¹ Dra. Olga Sonia León Fernández,² Dr. Manuel E. Licea Puig,³ Lic. Marcos Escobar Fernández,⁴ Lic. Esperanza Contreras Quintana⁵ y Dra. Martha Bustillo Vidal.⁶

RESUMEN

Se estudió el estrés oxidativo en los pacientes diabéticos insulino-dependientes con retinopatía diabética (RD) y sin ella, se evaluaron las especies reactivas de oxígeno, mediante la determinación de los niveles de malondialdehído (MDA) y la actividad de las enzimas superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT). Se obtuvo una muestra poblacional integrada por 84 pacientes diabéticos insulino-dependientes, divididos en 38 pacientes sin RD y 46 con RD, este último grupo se subdividió en 21 pacientes con RD no proliferativa y 25 con RD proliferativa (RDP). A todos los pacientes se les determinó en plasma: glucosa, hemoglobina glucosilada, fructosamina, SOD, CAT y MDA. Se observó que la característica clínica más sobresaliente fue el tiempo de evolución de la diabetes donde aquellos que presentaban RD tenían más de 15 años de evolución. Los pacientes diabéticos presentaron elevados niveles de peroxidación lipídica, que se incrementó con el grado de severidad de la RD y con el mal control metabólico a corto plazo. En conclusión, se comprobó que la DM se asocia a un estrés oxidativo, incrementado en los pacientes con RDP y en aquellos con mal control metabólico.

Descriptores DeCS: DIABETES MELLITUS INSULINO-DEPENDIENTE; RETINOPATÍA DIABÉTICA; ESTRÉS OXIDATIVO.

-
- ¹ **Máster en Ciencias. Especialista en Farmacia Clínica. Profesora Asistente. Centro de Investigaciones y Evaluaciones Biológicas. Instituto de Farmacia y Alimentos.**
 - ² **Doctor en Ciencias Biológicas. Centro de Investigaciones y Evaluaciones Biológicas. Instituto de Farmacia y Alimentos.**
 - ³ **Especialista de II Grado en Endocrinología. Profesor Auxiliar. Instituto Superior de Ciencias Médicas "Comandante Manuel Fajardo". Instituto Nacional de Endocrinología.**
 - ⁴ **Licenciado en Ciencias Matemáticas. Centro de Ensayos Clínicos.**
 - ⁵ **Licenciada en Ciencias Farmacéuticas. Centro de Investigaciones y Evaluaciones Biológicas. Instituto de Farmacia y Alimentos.**
 - ⁶ **Especialista de I Grado en Oftalmología. Instituto Nacional de Endocrinología.**

La diabetes mellitus (DM) constituye un problema importante de salud en el mundo actual, se encuentra entre una de las 10 primeras causas de morbilidad y mortalidad. Es un síndrome crónico no curable con los medios disponibles en la actualidad, causa limitaciones en el modo de vida de los pacientes y en muchos de ellos, el desarrollo de complicaciones microangiopáticas que pueden llevarlos a la invalidez,^{1,2} como lo es la retinopatía diabética (RD). Dicha complicación es una afectación de los capilares de la retina de carácter no inflamatorio y está considerada como la primera causa de ceguera en los pacientes diabéticos antes de los 65 años de edad.³

Entre los factores patogénicos del desarrollo de las complicaciones crónicas en el paciente diabético se considera el estrés oxidativo, que es el resultado de la ruptura del equilibrio entre la rápida formación de los radicales libres (RL) y la eficacia de los mecanismos antioxidantes endógenos. Las investigaciones clínicas encaminadas hacia este campo han ido en aumento, ya que es útil conocer la relación entre el estado oxidativo y las afectaciones crónicas asociadas a la DM, para desarrollar investigaciones con intervenciones terapéuticas antioxidantes, con el propósito de evitar o postergar su aparición y/o progresión.^{4,5}

El objetivo general de este trabajo es estudiar el estrés oxidativo en pacientes diabéticos dependientes de insulina (DMID) o tipo 1 con RD. Evaluando las especies reactivas derivadas de la reducción parcial del oxígeno molecular (ERO) mediante la determinación de los niveles de malonildialdehído (MDA) y la actividad de las enzimas superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT).

MÉTODOS

SUJETOS

La muestra poblacional estuvo integrada por 84 pacientes con DMID, pertenecientes a la Clínica de Atención al Diabético del Instituto Nacional de Endocrinología, la cual fue dividida en 2 grupos: I) 38 pacientes con DMID no complicados con RD y II) 46 pacientes con DMID complicados con RD. Este último grupo se subdividió atendiendo al grado de severidad de la RD en: a) 21 pacientes con retinopatía diabética no proliferativa (RDNP) y b) 25 pacientes con retinopatía diabética proliferativa (RDP).

El grupo control estuvo formado por 44 individuos voluntarios sanos, en un rango de edad comprendido entre 15 y 40 años.

PROCEDIMIENTO

Llevamos a cabo un estudio analítico transversal, donde reclutamos sólo los pacientes que cumplieran con los siguientes criterios de inclusión: sujetos clínicamente diagnosticados de DMID, según los criterios de la Organización Mundial de la Salud,⁶ complicados o no con RD,⁷ mayores de 15 años de edad, normotensos y los que solo recibían tratamiento con insulina y otros medicamentos que no modificaran la respuesta oxidativa.

Para la toma de la tensión arterial (TA) empleamos un esfigmomanómetro de Hg y el método auscultatorio de Korotkow. Obtuvimos el índice de masa corporal (IMC) por la siguiente fórmula: peso (kg)/talla (m²). Calculamos la dosis total de insulina diaria en unidades por kilogramos por día (U/kg/d). Clasificamos como fumador al que fumaba 1 ó más cigarrillos al día o que refería abandono del hábito en los 6 meses

anteriores a su inclusión en el estudio. Aceptamos como sedentarias aquellas personas que se trasladaban a la escuela o trabajo en vehículo automotor y trabajaban sentados o de pie, sin caminar o realizar movimientos que impliquen un esfuerzo físico.

Tomamos una muestra de sangre venosa después de 12 h de ayuno y antes de administrar insulina. Utilizamos como anticoagulante el citrato de sodio 3,8 %. El plasma obtenido lo conservamos a -20°C hasta el momento de su análisis. Las determinaciones realizadas fueron las siguientes: glucosa sanguínea, por el método de la glucosa oxidasa;⁸ hemoglobina glucosilada (HbA_{1c}), por el método basado en la reacción de color que se produce entre el ácido tiobarbitúrico y el hidroximetilfurfural,⁹ la fructosamina se determinó por la reducción del indicador redox azul de nitrotetrazolio;¹⁰ la SOD, por el método de la autoxidación del pirogallo;¹¹ la CAT, por el método de variación de la densidad óptica, empleamos como sustrato el peróxido de hidrógeno,¹² y el MDA, por el método del ácido tiobarbitúrico.¹³

La escala de valores para el análisis de la glucosa sanguínea en ayunas fue la siguiente: normal $<7,8$ mmol/L, regular 7,8 - 10 mmol/L y malo > 10 mmol/L. El control metabólico a corto plazo se basó en la determinación de fructosamina, lo consideramos bueno cuando el nivel de ésta fue $\leq 3,2$ mmol/L y malo, cuando fue $> 3,2$ mmol/L. Tomamos como buen control metabólico a mediano plazo si los valores de HbA_{1c} eran de 6 - 8 %; regular, si los valores eran $> 8 - 10$ y malo, si estos eran > 10 %.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En el análisis estadístico utilizamos la prueba de Kolmogorov-Smirnov de bondad de ajuste para probar si la distribución de cada una de las variables era normal. La

prueba de *t-test* para variables independientes, con la cual, de cumplir las pruebas de normalidad de las variables de los grupos a comparar, se obtiene el valor de significación de las diferencias para 2 grupos de pacientes. La prueba de Levene's para homogeneidad de varianzas, que permite conocer cuál de los resultados dados por la prueba anterior es el más confiable. U de Mann-Whitney es la prueba más potente cuando no se cumplen los supuestos de normalidad y se usa para detectar diferencia entre 2 grupos de pacientes en cada una de las variables. En los casos en que no se cumplieron todos los requisitos para aplicar las pruebas de comparación entre varios grupos de pacientes, más de 2, utilizamos el análisis de varianza de Kruskal-Wallis. Definimos $\alpha \leq 0,05$ como nivel mínimo de significación para las pruebas estadísticas empleadas.

RESULTADOS

En la tabla 1 presentamos las características clínicas generales de los pacientes con DMID con RD y sin ella. Comprobamos que los diabéticos con RD tenían una edad, al inicio de la diabetes, menor ($p = 0,005$) y un tiempo de evolución de la diabetes mayor ($p = 0,001$), que los pacientes diabéticos sin RD. Todos los pacientes presentaron un IMC menor de 24,9 para el sexo masculino y de 23,7 para el femenino, todos resultaron normopesos. Las dosis diarias de insulina utilizadas fueron menores de 1 U/kg/d para todos los pacientes diabéticos independientes que tuvieran o no RD. La incidencia de la diabetes fue similar en ambos sexos. Observamos un mayor porcentaje de sedentarismo en los diabéticos con RD al compararlos con el grupo control y el grupo de diabéticos sin RD, con una diferencia estadísticamente significativa de $p = 0,002$ y $p = 0,02$, respectivamente.

En los pacientes con DMID con RD y sin ella, la actividad de la enzima SOD no mostró diferencias significativas entre ellos. La actividad de la enzima CAT estuvo disminuida en los diabéticos con RD y sin ella con respecto al grupo control ($p = 0,02$ y $0,002$, respectivamente). Los niveles de

MDA fueron significativamente elevados tanto en los pacientes diabéticos sin RD y con RD al compararlos con el grupo control ($p = 0,0001$). Los diabéticos complicados con RD exhibieron valores de MDA significativamente mayores que los no complicados ($p = 0,03$) (tabla 2).

TABLA 1. Características clínicas de los pacientes diabéticos insulinodependientes con retinopatía diabética y sin ella

Características clínicas	Control (n=44)	DMID sin RD (n=38)	DMID con RD (n=46)
Edad (años) (X ± DE)	29,0 ± 5,1	28,2 ± 6,8 ^a	33,4 ± 10,0 ^b
IMC (kg/m ²): Masculino (X ± DE)	22,9 ± 2,5	21,1 ± 1,9	21,7 ± 2,5
Femenino (X ± DE)	22,7 ± 3,6	21,5 ± 3,3	22,6 ± 1,2
Edad de presentación diabética (años) (X ± DE)	-	21,5 ± 8,0 ^c	15,8 ± 9,0 ^d
Tiempo de evolución de la diabetes (años) (X ± DE)	-	6,7 ± 6,2 ^e	17,6 ± 7,6 ^f
Dosis de insulina (U/kg/d) (X ± DE)	-	0,7 ± 0,3	0,7 ± 0,3
Tensión arterial sistólica (mmHg) (X ± DE)	118,2 ± 2,2 ^g	114,5 ± 11,8 ^h	122,4 ± 17,2
Tensión arterial diastólica (mmHg) (X ± DE)	78,0 ± 0,8 ⁱ	76,0 ± 8,4 ^k	77,4 ± 10,2

(a vs. b $p=0,05$; c vs. d $p=0,005$; e vs. f $p=0,001$; g vs. h $p=0,004$; h vs. i $p=0,011$; j vs. k $p=0,002$).

Sexo (M/F) (n)	24/20	17/21	22/24
Fumadores [n (%)]	16 (36,3)	14 (36,8)	14 (30,4)
Sedentarios [n (%)]	24 (54,5) ¹	25 (65,8) ^m	40 (86,9) ⁿ

(1 vs. n $p=0,002$; m vs. n $p=0,02$).

TABLA 2. Valores de los indicadores bioquímicos en los diferentes grupos de tratamiento

Indicadores bioquímicos	Control (n=44)	DMID sin RD (n=38)	DMID con RD (n=46)
Superóxido dismutasa (U/L/min) x 1 000 (X ± DE)	20,4 ± 24,0	18,4 ± 13,7	18,5 ± 13,3
Catalasa (U/L/min) (X ± DE)	4378,5 ± 709,7 ^a	2085,9 ± 600,3 ^b	3524,6 ± 1172,4 ^c
Malondialdehído (mmol/L) (X ± DE)	77,3 ± 28,9 ^d	867,7 ± 78,1 ^e	1124,3 ± 65,9 ^f

a vs. b $p=0,002$; a vs. c $p=0,02$; d vs. e, f $p=0,0001$; e vs. f $p=0,03$.

Al evaluar la peroxidación lipídica, a través de los valores de MDA, de acuerdo con la severidad de la RD, encontramos valores de MDA elevados en ambos grupos de diabéticos con RD al compararlos con los del grupo control

($p=0,0001$). Aquellos afectados de DMID con RDP presentaron valores significativamente elevados ($1150 ± 104,5$ nmol/L) en relación con los que padecían de RDNP ($847,8 ± 104,3$ nmol/L, $p=0,04$) (fig. 1).

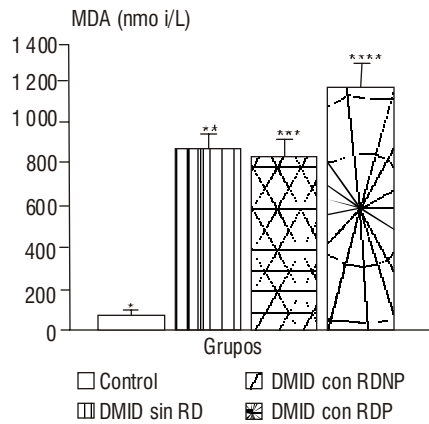


FIG. 1. Niveles malondialdehído en los pacientes con DMID, sin retinopatía diabética, con retinopatía diabética no proliferativa y retinopatía diabética proliferativa. $X \pm SEM^*$ - vs. ** *** vs. **** $p=0,04$

Los valores de glucemia obtenidos fueron de $10,0 \pm 0,5$ mmol/L en los pacientes diabéticos sin RD, de $8,2 \pm 0,9$ mmol/L en

aquellos con RDNP y de $9,8 \pm 0,8$ mmol/L en los que tenían RDP, sin diferencias estadísticamente significativas entre ellos. En todos los grupos de diabéticos independientemente de la presencia y severidad de la RD, los valores de glucemia en ayunas se encontraban dentro del rango considerado como regular. Las cifras de fructosamina fueron de $2,5 \pm 0,1$ mmol/L en el grupo control, de $3,2 \pm 0,5$ mmol/L en los pacientes diabéticos sin RD, de $2,4 \pm 0,2$ mmol/L en los pacientes diabéticos con RDNP y de $2,8 \pm 0,2$ mmol/L en aquellos con RDP. A pesar de que todos los valores de fructosamina se encontraban dentro del rango considerado como bueno, se encontró diferencia significativa entre el grupo de diabético sin RD y el grupo control ($p=0,03$). La HbA_{1c} fue de $7,6 \pm 0,3$ % en los diabéticos sin RD, de $9,2 \pm 0,2$ % en los que tenían RDNP y de

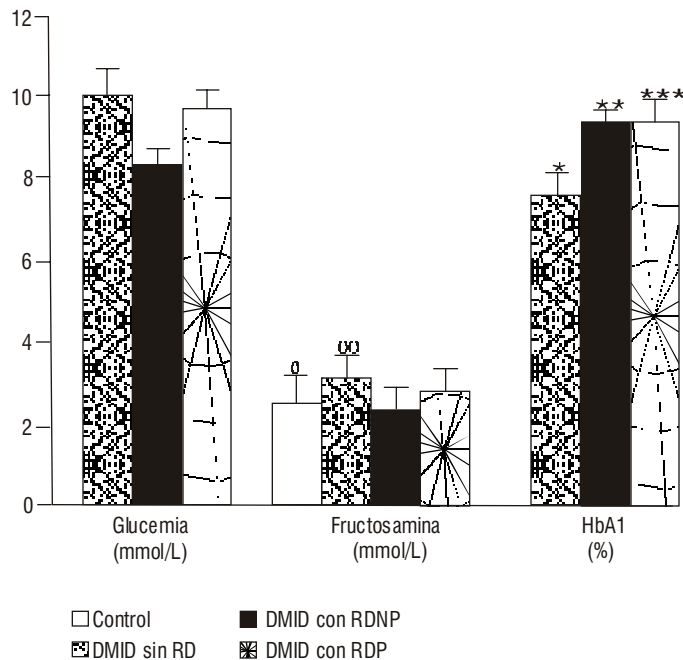


FIG. 2. Comportamiento del control metabólico de los pacientes con DMID sin retinopatía diabética, con retinopatía diabética no proliferativa y retinopatía diabética proliferativa. $X \pm SEM^*$ vs. ** *** $p=0,001$

TABLA 3. Niveles de MDA según el control metabólico de los pacientes diabéticos insulino-dependientes con RD y sin ella

Indicadores del control metabólico	MDA (nmol/L)	
	DMID sin RD (n=38)	DMID con RD (n=46)
Fructosamina (mmol/L)		
2,1 - 3,2 mmol/L (bueno) (X ± DE)	1044 ± 88,9	981,5 ± 206,5 ^a
> 3,2 mmol/L (malo) (X ± DE)	1100 ± 244,5	1394,1 ± 347,3 ^b
HbA _{1c} (%)		
6 - 8 % (bueno) (X ± DE)	890,7 ± 524,4	978,5 ± 438,1
> 8 - 10 % (regular) (X ± DE)	995,6 ± 423,2	1087,9 ± 276,9
> 10 % (malo) (X ± DE)	1420,0 ± 458,2	1227,1 ± 556,5

(a vs. b p=0,007).

9,2±0,3% en los portadores de RDP. La HbA_{1c} estuvo elevada significativamente (p=0,001), en los diabéticos afectados de RD con ambos grados de severidad, al compararlos con el grupo de diabéticos sin RD (fig. 2).

Al estratificar los niveles de MDA de acuerdo con las categorías de los indicadores del control metabólico: fructosamina y HbA_{1c}; se encontró que el MDA estuvo incrementado en los pacientes diabéticos con RD que presentaban valores de fructosamina que indicaban un mal control metabólico a corto plazo (p=0,007) en relación con aquellos que tuvieron valores de fructosamina en el rango normal. Aunque no hallamos diferencias significativas, vale la pena señalar que los niveles de MDA fueron mayores en la medida en que empeoró el control metabólico (tabla 3).

DISCUSIÓN

Las características clínicas de los pacientes con DMID con RD y sin ella son similares a las referidas en la literatura. Se plantea que este síndrome aparece con mayor frecuencia en las edades infantiles y juveniles y su incidencia no está relacionada con el sexo.¹⁴ Nakamura y otros¹⁵ consideran que la hiperglucemia y el tiempo de evolución de la DM mayor que

5 años, son los factores de riesgos más importantes en la aparición de las complicaciones microangiopáticas. En nuestro estudio, los pacientes tenían un tiempo de evolución de la diabetes mayor que 5 años, condición que hace más propicia la aparición de la RD. Varios autores¹⁶⁻¹⁸ plantean que el sedentarismo es un factor agravante para la diabetes, en nuestro estudio el mayor porcentaje de pacientes sedentarios correspondió al grupo de diabéticos con RD, lo cual sugiere que dicha afección ocular pudiera limitar la actividad física de estos pacientes. A pesar de lo señalado anteriormente, todos los pacientes presentaban un IMC dentro del rango de normopeso, lo que es de habitual observación en los pacientes con DMID.

Los niveles significativamente elevados de MDA en los pacientes diabéticos con la presencia o no de RD y aun mayores en aquellos complicados con RD, sugieren la existencia de una peroxidación lipídica incrementada en el síndrome diabético. Estas observaciones pueden explicarse porque dicha peroxidación es la consecuencia de una gran formación de radicales hidroxilos y estos a su vez, de altas concentraciones de peróxido de hidrógeno, que en estos pacientes diabéticos está favorecida por una baja actividad de la enzima CAT, responsable de convertir a dicho sustrato en agua y oxígeno,¹⁹ lo cual muestra un ineficaz

mecanismo antioxidante endógeno en estos pacientes diabéticos (fig. 3).

La normal actividad de la enzima SOD encontrada en nuestro estudio, nos hace pensar que la mayor fuente de peróxido de hidrógeno, en estos pacientes, proviene de la autoxidación de la glucosa sanguínea, aunque el control metabólico, determinado por la glucemia en ayunas y la HbA_{1c} fue regular; lo que reafirma la importancia de mantener en el paciente diabético, un buen control metabólico. Los niveles de MDA no sólo fueron significativamente elevados, sino que esta alteración fue más marcada en los pacientes con mal control metabólico a corto plazo evaluado por los niveles de fructosamina.

La glucosa sanguínea en altas concentraciones actúa como una llave en el mecanismo patogénico de las complicaciones vasculares de la DM, por ser capaz de unirse a los grupos aminos de las proteínas de vida media prolongada, mediante una reacción de condensación y formar los productos finales de la glucosilación avanzada (PFGA).^{20,21} La consecuencia final de estas 2 reacciones es la afectación de las propiedades funcionales de las proteínas, lo que compromete las funciones propias del tejido endotelial del cual forman parte. Además, durante estas reacciones y la autoxidación de la glucosa

se generan ERO como: peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilos que contribuyen a la aparición del estrés oxidativo.²² Esto explica que hayamos encontrado que los niveles de MDA estuvieron incrementados proporcionalmente a la hiperglucemia sostenida en un período de 2 a 3 sem, determinado por la fructosamina.

El incremento de la lipoperoxidación en los pacientes con DMID con grado más severo de la RD, sugiere que las ERO desempeñan una función determinante como factor desencadenante y agravantes de la RD, potenciado por el aumento del tiempo de evolución de la diabetes. *Altomare* y otros²³ consideran que el estrés oxidativo está involucrado en la propia complicación ocular diabética, en la cual la disminución de los secuestradores de RL se asoció con la oxidación de las proteínas del vítreo y del cristalino. Estos resultados evidencian que la oxidación de las proteínas representa un importante mecanismo en la patogenia de las complicaciones oculares del diabético.

De nuestro estudio podemos concluir que el estrés oxidativo está asociado al síndrome diabético. El índice de peroxidación lipídica, que constituye un marcador del estrés oxidativo, se correspondió con la presencia y severidad de la RD y con el empeoramiento del control metabólico.

SUMMARY

The oxidative stress was studied in insulin-dependent diabetic patients with and without diabetic retinopathy (DR). The reactive oxygen species were evaluated by the determination of the levels of malondialdehyde (MDA) and the activity of the superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) enzymes. A population sample composed of 84 insulin-dependent diabetic patients, divided into 38 patients without DR and 46 with DR was obtained. This last group was subdivided into 21 patients with non-proliferative DR and 25 with proliferative DR (PDR). Glucose, glycosylated hemoglobin, fructosamine, SOD, CAT and MDA were determined in plasma of all patients. It was observed that the most significant clinical characteristic

was the time of evolution of diabetes, where those with DR had more than 15 years of evolution. The diabetic patients showed elevated levels of lipid peroxidation, which increased with the degree of severity of DR and with the poor short term metabolic control. To conclude, it was proved that DM is associated with an oxidative stress that is higher in patients with PDR and among those with a deficient metabolic control.

Subject headings: DIABETES MELLITUS, INSULIN-DEPENDENT; RETINOPATHY, DIABETIC; OXIDATIVE STRESS.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Licea ME, Bustillo E. Patogenia de la diabetes mellitus insulino dependiente. En: Diabetes Mellitus. La Habana: Editorial Ciencias Médicas, 1986:37-48.
2. Licea ME. Estrategias para la prevención de la diabetes mellitus. En: Tratamiento de la diabetes mellitus. 2da ed. Brasilia: Ideal, 1995:9-19.
3. ———. Tratamiento de la retinopatía diabética. Consideraciones generales. En: Tratamiento de la diabetes mellitus. 2da ed. Brasilia: Ideal, 1995:131-5.
4. Jain SK, Mc Vie R, Jaramillo JJ, Palmer M, Smith T, Meachum ZD, et al. The effect of modest vitamin E supplementation in diabetes patients. *Lipids* 1996;31:S87-S90.
5. Jain SK, McVie R, Jaramillo JJ, Palmer M, Smith T. Effect of modest vitamin E supplementation on blood glycated hemoglobin and triglyceride levels and cell indices in type I diabetic patients. *J Am Coll Nutr* 1996;15:458-61.
6. WHO. Expert Committee on diabetes mellitu. 2do report. Geneva: WHO, Tech Prep Ser. 646:1980.
7. L'Esperance FA. Retinopatía diabética. *Clin Med North Am* 1978;62:787-90.
8. Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with alternative oxygen acceptor. *Am Clin Biochem* 1969;6:24-7.
9. Fluckiger R, Winterhalter KH. In vitro synthesis of HbA1c. *FEBS. Lett* 1976;71:356-8.
10. Johannes T, Münch G, Müller R. Advanced glycation end products-associated parameters in the peripheral blood of patients with Alzheimer's disease. *Life Sci* 1996;59:679-85.
11. Yi S, Oberley LW, Ying L. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin. Chem* 1988;34:497-500.
12. Boehringer Mannheim. Biochemica Information. Alemania, 1987:15-8.
13. Buege JA, Aust D. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzimol* 1978;30:301-10.
14. Skler JS. The impact of the DCCT. *Intern Diab Monit* 1993;5:1-3.
15. Nakamura T, Imamura K, Takebe K. Diabetic retinopathy in Japanese patients with long-standing pancreatic diabetes due to calcifying pancreatitis. *Tokoku J Exp Med* 1994;174:49-58.
16. Licea EM. Ejercicios. En: Tratamiento de la diabetes mellitus. 2da ed. Brasilia: Ideal, 1995:34-40.
17. Herrera JL. Physiol exercise and diabetes. *Av Diabetol* 1991;4:31-40.
18. Rodríguez BR, Claro A, González SR. Estudio de la tolerancia a la glucosa y secreción insulínica en un grupo de obesos. *Rev Cubana Endocrinol* 1992;3:35-44.
19. Ecobichon DJ. Glutathione depletion and resynthesis in laboratory animals. *Drug Chem Toxicol* 1984;7:345-65.
20. Giugliano D, Acampora R, D'Onofrio F. Medical hypothesis cardiovascular complications of diabetes mellitus from glucose to insulin and back. *Diabete Metab* 1994;20:445-53.
21. Lyons TJ, Jenkins AJ. Glycation, oxidation, and lipoxidation in the development of the complications of diabetes a carbonyl stress hypothesis. *Diabetes Rev* 1997;5:365-91.
22. Bunn HF, Higgins PJ. Reaction of monosaccharides with proteins: possible evolutionary significance. *Science* 1981;213:222-4.
23. Altomare E, Grattagliano Y, Vendemaile G, Micelli-Ferrari T, Signirile A, Cardia L. Oxidative protein damage in human diabetic eye: evidence of a retinal participation. *Eur J Clin Invest* 1997;27:141-7.

Recibido: 12 de septiembre de 2000. Aprobado: 2 de diciembre de 2000.

Dr. Manuel E. Licea Puig. Centro de Atención al Diabético. 17 y D, El Vedado, Plaza de la Revolución, Ciudad de La Habana, Cuba.