



Biotecnia

E-ISSN: 1665-1456

biotecnia@ciencias.uson.mx

Universidad de Sonora

México

Candia Plata, María del Carmen; Domínguez Huguez, Karen; Rascón Pacheco, Ramón  
Alberto; García Villa, Miriam Denisse; Gutiérrez Candia, Sergio; Bolado Martínez,  
Enrique; Castillón Campaña, Lucía G.; López Soto, Luis Fernando  
EVIDENCIA DE ESTRÉS CARBONÍLICO EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS  
TIPO 2 DE UNA UNIDAD MÉDICA DE PRIMER NIVEL DE ATENCIÓN DE  
HERMOSILLO, SONORA

Biotecnia, vol. 13, núm. 3, 2011, pp. 41-48

Universidad de Sonora

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=672971156006>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

# EVIDENCIA DE ESTRÉS CARBONÍLICO EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 DE UNA UNIDAD MÉDICA DE PRIMER NIVEL DE ATENCIÓN DE HERMOSILLO, SONORA

ELEVATION OF CARBONYLATED PROTEINS IN SERUM OF TYPE 2 DIABETES MELLITUS PATIENTS TREATED AS OUTPATIENTS IN A PRIMARY MEDICAL CARE UNIT AT HERMOSILLO, SONORA

**María del Carmen Candia Plata\*<sup>1</sup>, Karen Domínguez Huguez<sup>2</sup>, Ramón Alberto Rascón Pacheco<sup>1</sup>, Miriam Denisse García Villa<sup>1</sup>, Sergio Gutiérrez Candia<sup>1</sup>, Enrique Bolado Martínez<sup>3</sup>, Lucía G. Castellón Campaña<sup>3</sup> y Luis Fernando López Soto<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Departamento de Medicina y Ciencias de la Salud, Universidad de Sonora. Encinas y Rosales s/n. Hermosillo, Sonora, 83000. México. <sup>2</sup>Programa de Maestría en Ciencias de la Salud, Universidad de Sonora. Encinas y Rosales s/n. Hermosillo, Sonora, 83000. México. <sup>3</sup>Departamento de Ciencias Químico Biológicas, Universidad de Sonora. Encinas y Rosales s/n. Hermosillo, Sonora, 83000. México.

## RESUMEN

En la diabetes mellitus tipo 2 (DM2), la carbonilación proteica está asociada con la hiperglicemia crónica. Es una modificación química espontánea que altera la estructura y funciones nativas de las proteínas, por lo que podría ser un estimador del control metabólico de los pacientes. En México no es utilizado en la práctica clínica, por lo que no es posible saber si los pacientes con DM2 presentan una concentración alta de proteínas carboniladas. En este trabajo, de tipo transversal analítico, se incluyeron 68 pacientes con diabetes mellitus tipo 2 de una unidad médica de primer nivel de Hermosillo, Sonora, para determinar la concentración de proteínas séricas carboniladas y estimar su relación con los marcadores de control metabólico de la DM2. Los resultados demostraron el incremento significativo en la concentración de proteínas séricas carboniladas que correlacionó positivamente con la glicemia y con la concentración de albúmina carbonilada. Estos sugieren que el estrés carbonílico de los pacientes está asociado con el descontrol glicémico y que la albúmina es una de las principales fracciones proteicas modificadas. Se recomiendan futuros estudios para determinar el valor clínico de las proteínas séricas carboniladas como marcador de control metabólico en los pacientes estudiados.

## ABSTRACT

Protein carbonylation is a direct consequence of chronic hyperglycemia in diabetes mellitus. It is a spontaneous chemical modification promoted by glucose, which causes deleterious effects to the native structure of proteins. In this analytical, cross-sectional study, we estimated the concentration of carbonylated proteins in serum of 68 patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM) from a primary health care at Hermosillo, Sonora, to demonstrate the relationship between the elevation of carbonylated proteins and the metabolic markers of patients. The results showed a significant increase in the concentration of carbonylated proteins of patients. This elevation correlated positively with glucose and serum albumin concentration (both, native and modified albumin). Clinical value of carbonylated proteins must be addressed in T2DM patients.

\* Autor para correspondencia: Dra. María del Carmen Candia Plata.  
Correo electrónico: carmenc@guayacan.uson.mx  
Recibido: 6 de octubre de 2011  
Aceptado: 21 de diciembre de 2011



## INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es un síndrome plurimetabólico que se caracteriza por el aumento crónico de la concentración de glucosa en sangre (hiperglicemia), ya sea por un déficit (absoluto o relativo) de insulina y/o por defectos en los procesos de señalización hormonal (ADA, 2011).

La diabetes aumenta notablemente el riesgo de desarrollar complicaciones tales como retinopatía, neuropatía, nefropatía, enfermedad cardiovascular y enfermedad cerebrovascular (Cade, 2008). Estas complicaciones son el resultado de complejos mecanismos que involucran la pérdida de funcionalidad de distintas biomoléculas y grandes desequilibrios celulares (Gleissner *et al.*, 2007).

Por su contacto permanente con la glucosa circulante, las proteínas séricas y endoteliales experimentan modificaciones químicas, tales como carbonilación y oxidación, que dañan su función y las convierten en moléculas potencialmente dañinas para el organismo (Ramakrishna y Jaiikhani, 2007). Las proteínas carboniladas se forman desde las primeras etapas clínicas de la diabetes y son químicamente estables, por lo que se ha sugerido su utilidad como biomarcadores del control y evolución de la enfermedad (Tetik *et al.*, 2007). No obstante lo anterior, la estimación de las proteínas carboniladas no forma parte de la batería de pruebas de laboratorio rutinarias en el sistema de salud regional. Además, se ha observado que un elevado porcentaje de los pacientes desarrollan complicaciones vasculares, a pesar del aparente buen control de la glicemia, colesterol y/o triglicéridos (Molina, 2011). Por estas razones, es importante demostrar que la determinación de la concentración de proteínas carboniladas es de utilidad para estimar la evolución de los pacientes con DM2, pero para ello, es necesaria la demostración preliminar de que la concentración de proteínas séricas carboniladas se asocia con el control glicémico.

Actualmente se cuenta con varios métodos para la cuantificación de las proteínas carboniladas, la

mayoría de ellos requieren de una derivatización con 2,4-dinitrofenilhidrazina, seguida de la detección espectrofotométrica de la hidrazona resultante. Estos métodos parecen tener buena sensibilidad, sin embargo casi siempre los métodos originales requieren modificaciones para obtener resultados precisos y repetibles (Dalle-Donne *et al.*, 2002; Trullols *et al.*, 2004). Por lo anterior, en este trabajo se validó el método colorimétrico de Levine (1990) ajustándolo a las condiciones descritas en el catálogo 10005020 de Cayman Chemical (USA). Una vez validado internamente, el método fue utilizado para estimar la concentración de proteínas carboniladas en el suero de un grupo de pacientes con DM2 de una unidad médica familiar de la localidad. Los resultados fueron comparados con un grupo control integrado por personas aparentemente sanas, a fin de demostrar que los pacientes con DM2 tienen elevada la concentración de estas proteínas en correlación con la glicemia de los pacientes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio fue aprobado por el Comité de Bioética del Instituto Mexicano del Seguro Social, en Hermosillo Sonora, México como un estudio de riesgo mínimo. Todos los sujetos participantes, otorgaron su consentimiento después de que recibieron una explicación completa de los beneficios y los riesgos de su participación en el estudio, de acuerdo a la Declaración de Helsinki (esta declaración indica la necesidad de solicitar a cada paciente o a sus familiares, por escrito, su consentimiento informado antes de incluirlos en cualquier estudio) y se les aseguró la confidencialidad y derechos reservados estipulados por la Ley de Información Estadística y Geográfica Mexicana.

### Población de estudio y muestreo

Este estudio inició con la valoración clínica y de laboratorio de un grupo de 168 pacientes con DM2 ambulatorios, de ambos géneros, de la base de datos electrónica de pacientes de una unidad médica de primer nivel de Hermosillo, Sonora, México. Todos los pacientes fueron invitados a participar en el estudio con

el único criterio de que su expediente médico tuviera suficiente información clínica verificable (muestreo por conveniencia). Los datos primarios del interrogatorio clínico, exploración física y laboratorio clínico (química sanguínea y lípidos plasmáticos), fueron cotejados con la información contenida en el expediente médico electrónico. Con esta información, fueron excluidos del estudio los pacientes cuyos expedientes médicos contenían información secundaria no coincidente con los datos clínicos primarios. Otros pacientes fueron excluidos o eliminados del estudio, tras la aplicación de los criterios correspondientes (descritos más adelante). La muestra final se limitó a 68 pacientes con DM2, con una edad media de 61 años ( $\pm 9,35$ ), 63% de pacientes del género femenino y 37% del masculino. El grupo control, requerido en el estudio para contar con valores de comparación (porque no existen valores de referencia de proteínas carboniladas en la población), estuvo integrado por 19 personas adultas aparentemente sanas, con edad media de 49 años ( $\pm 8,74$ ) y una relación hombres/mujeres de 4/15.

### **Criterios de inclusión, exclusión y eliminación**

Los pacientes fueron adultos atendidos periódicamente en la unidad médica de forma ambulatoria y de ambos sexos, independientemente del tiempo de diagnóstico de la diabetes, del tipo de fármaco utilizado para su control y de la presencia o no de complicaciones vasculares. Fueron excluidos del estudio los pacientes que no tenían completo su expediente clínico, incluyendo la información primaria y secundaria. Fueron eliminados los pacientes en los que hubo falta de concordancia entre el expediente clínico y los datos de laboratorio.

### **Muestras sanguíneas y métodos de laboratorio clínico**

Los pacientes fueron citados en la unidad médica para la toma de una muestra sanguínea matutina, con una ayuno de 10 a 12 horas. Se obtuvieron aproximadamente 10 mL de sangre venosa, en dos tubos al vacío, con el anticoagulante EDTA y sin anticoagulante. Las muestras sanguíneas fueron

transportadas inmediatamente al Laboratorio de Bioquímica Clínica del Departamento de Medicina y Ciencias de la Salud, de la Universidad de Sonora, para su procesamiento. La sangre total (con anticoagulante) fue separada en dos alícuotas; una de ellas se utilizó para la determinación de glicohemoglobina (HbA1c) y el remanente se centrifugó a 1,000 x g durante 15 minutos para separar el plasma y determinar por colorimetría, el colesterol de baja y alta densidad, colesterol total y triglicéridos. El tubo sin anticoagulante, fue centrifugado a 1,000 x g por 15 minutos para retraer el coágulo y obtener el suero. Los reactivos utilizados en todas las determinaciones bioquímicas fueron de la marca Randox® (México) y la medición de los analitos se llevó a cabo en un espectrofotómetro Aquamate Thermo-Spectronic (Reino Unido), utilizando celdas de cuarzo. La glicohemoglobina (HbA1c) fue por inmunoafinidad (método inmunológico, con No. de cat. HA 3830A). En el suero se determinó glucosa (método GOD-PAP, con No. de cat. GL2623), colesterol total (método CHOD-PAP, con No. de cat. CH200), triglicéridos (método GPO-PAP, con No. de cat. TR210), HDL-colesterol (HDL) (método de precipitación con ácido fosfotúngstico, con No. de cat. CH204A), LDL-colesterol (LDL) (método de precipitación con heparina, con No. de cat. CH1350A), proteínas totales (método de Biuret, con No. de cat. TP1630A), albúmina (método de púrpura de bromocresol, con No. de cat. AB388A) y creatinina (método de Jaffe sin desproteinización, con No. de cat. CR510). Para validar la exactitud de las determinaciones, en todos ellos se utilizaron multiseros humanos (sueros control, niveles 1 y 2) y suero control de lípidos nivel 2 (No de cat. LE2662A) así como dos controles de sangre total con niveles normales y elevados de glicohemoglobina. Los coeficientes de variación (CV) intra-ensayo fueron < 6%. La proteína C reactiva (PCR) se estimó por nefelometría (MININEPH™, The Binding Site, CA, USA) y el ácido siálico por un ensayo colorimétrico de la casa comercial Roche® (Mannheim, Alemania).

### **Estimación de proteínas séricas carboniladas**

Se determinó la concentración de proteínas totales



de cada una de las 87 muestras séricas por medio del método de Stoscheck (1990). La concentración proteica de las muestras fue posteriormente ajustada a 10 mg/mL con amortiguador de fosfatos 20 mM, pH 7,2. La metodología para estimar la concentración de proteínas carboniladas fue estandarizada a partir del método de Levine (1990), ajustando las condiciones de acuerdo con el método de Cayman Chemical, USA. La técnica consistió en derivatizar 100 µL del suero (previamente ajustado a una concentración de 10 mg mL<sup>-1</sup>) con 400 µL de una solución de 2,4-dinitrofenilhidrazina 10 mM, en HCl 2 N, por 1 hora, en la oscuridad y con agitación ocasional. Subsecuentemente, la proteína fue precipitada con 500 µL de una solución de ácido tricloroacético al 20% y separada por centrifugación por 10 minutos a 4°C y 2,500 g. El sobrenadante se descartó y el precipitado fue resuspendido en 500 µL de ácido tricloroacético al 10%, que de igual manera fue centrifugado durante 10 minutos a 4°C y 2,500 g. El precipitado fue lavado tres veces con una solución de etanol-acetato de etilo 1:1 (vol/vol) a 4°C, por 15 minutos y centrifugado a 3,500 g. Por último, la proteína precipitada fue suspendida en 250 µL de hidrocloreuro de guanidina 6 M, pH 2,5. El proceso de lavado del precipitado proteico conduce a la pérdida de proteína, por lo que la concentración final de proteína se determinó con una dilución 1:10, utilizando el método ultravioleta, contra un blanco de suero tratado con HCl 2 N (sin 2,4-dinitrofenilhidrazina).

El coeficiente de extinción molar para la dinitrofenilhidrazina a 360 nm, que es de 0,022 µM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>, fue utilizado para la determinación de la concentración de carbonilos en nmol mL<sup>-1</sup>, según la siguiente ecuación: nmol/mL = (Absorbancia a 360 nm/coeficiente de extinción molar 0,022 µM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>) (250 µL/100 µL). La absorbancia obtenida fue corregida con una curva estándar de albúmina de suero bovino (0,25 mg mL<sup>-1</sup> - 2,0 mg mL<sup>-1</sup>) disuelta en hidrocloreuro de guanidina 6 M, pH 2,5, con la siguiente ecuación: Concentración de proteína (mg/mL) = [Absorbancia<sub>280nm</sub> - Intercepto de Y/Pendiente] X 2,5 X 10. Finalmente, para determinar la concentración de carbonilos en

nmol mg<sup>-1</sup> se utilizó la siguiente ecuación: Carbonilos (nmol mg<sup>-1</sup>) = (Carbonilos nmol mL<sup>-1</sup>)/(concentración de proteína en el precipitado mg mL<sup>-1</sup>). Para determinar la repetibilidad del método se determinó el coeficiente de variación de los resultados de ocho ensayos de una misma muestra, en diferentes días bajo las condiciones analíticas estandarizadas.

### Análisis de la información

La prueba de Mann-Whitney fue usada para comparar la mediana de la concentración de proteínas carboniladas entre el grupo de pacientes y el grupo control, una vez que se demostró la distribución no normal de los valores individuales. Para examinar la relación entre dos variables se calculó el coeficiente de Spearman. Las diferencias, fueron consideradas estadísticamente significativas cuando el valor de *p* fue <0.05 para una prueba de una cola. La significancia estadística fue analizada en el software NCSS Statistical and Power Analysis (NCSS, Kaysville, UT, 2001).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este trabajo se estimó la concentración proteínas séricas carboniladas de un grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 de una unidad médica de primer nivel de atención de Hermosillo, Sonora. La estimación de la concentración de proteínas carboniladas, fue realizada mediante la derivatización, con 2,4-dinitrofenilhidrazina (2,4-DNPH), de las proteínas séricas, seguida de la detección espectrofotométrica de la hidrazona resultante. Este método (Levine, 1990) fue ajustado a las condiciones descritas en el catálogo 10005020 de Cayman Chemical (USA) y una vez validado se demostró que el coeficiente de variación fue de 6,66%. Este coeficiente fue superior al reportado por el equipo colorimétrico de Cayman Chemical, USA, de 4,7%, pero menor al límite superior permitido (<10%) para las técnicas espectrofotométricas.

La edad media de los 68 pacientes con DM2 incluidos en el estudio, fue de 61 ± 9,35 años, con 63% de pacientes del sexo femenino y 37% de pacientes del sexo masculino. En el grupo control, la edad media fue



49 ± 8,74 años, con 79% de mujeres y 21% de hombres (Tabla I).

La concentración media de proteínas séricas carboniladas en el grupo problema fue de 0,87 ± 0,19 nmoL mg<sup>-1</sup>, mientras que en el grupo control fue de 0,72 ± 0,16 nmoL mg<sup>-1</sup>. Se observó que el 26% de los pacientes con DM2 presentó una concentración de proteínas séricas carboniladas superior al intervalo normal de 0,1-1,0 nmoL mg<sup>-1</sup> (Cayman Chemical, USA, cat. 10005020), mientras que los miembros del grupo control, formado por 19 personas aparentemente sanas, mostraron niveles de proteínas carboniladas dentro de ese rango. Al analizar la distribución de los datos individuales de ambos grupos se observó una curva de frecuencias bimodal, por lo cual se hizo una comparación de medianas de la concentración de proteínas séricas carboniladas de los pacientes con respecto a la de los controles utilizando la prueba no paramétrica de Mann-Whitney. Este análisis demostró que la concentración de proteínas séricas carboniladas

de los pacientes fue significativamente superior que la de los sujetos aparentemente sanos, con una significancia de  $p < 0.05$  con el análisis de una cola (Tabla 2). Este resultado coincidió con los publicados por Odetti *et al.* (1999), Konukoglu *et al.* (2002), De Cristofaro *et al.* (2003), Kayali *et al.* (2003), Wright *et al.* (2006), Ramakrishma y Jaikhani (2007) y Farah *et al.* (2008), quienes han demostrado una concentración alta de proteínas carboniladas en los pacientes con DM2.

La proporción de mujeres en el grupo de pacientes, significativamente mayor que la de hombres, podría haber sesgado los resultados del estudio, pues se ha publicado que los estrógenos las protegen frente a la oxidación proteica (Behl *et al.*, 1997). Por esta razón, la concentración de proteínas carboniladas de los pacientes fue comparada con la de los controles, utilizando la variable género como variable de ajuste; no se observó diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) en la concentración de proteínas séricas carboniladas

**Tabla 1.** Características demográficas y valores medios de los marcadores bioquímicos de los pacientes y los sujetos control incluidos en el estudio.

**Table 1.** Demographic characteristics and mean values of biochemical markers of T2DM patients and control subjects in the study.

	Grupo con DM2 (n= 68)	Grupo Control (n=19)	Valores de Referencia*	Valor de p
Edad (años)	61 ± 9.35	49 ± 8.74		
Rel. Sexo M/F	25/43	4/15		
Glucosa mg/dL	166.11 ± 78.18	91.10 ± 10.89	70-110	< 0.001
Hemoglobina A1c (%)	9.53 ± 3.46	5.65 ± 0.70	< 6.0	< 0.001
Colesterol (mg/dL)	186.88 ± 45.98	178.05 ± 26.02	< 200	0.1975
Triglicéridos (mg/dL)	147.89 ± 73.39	102 ± 37.05	< 150	0.6413
HDL (mg/dL)	50.45 ± 14.23	55.57 ± 18.57	>50	0.9999
LDL (mg/dL)	113.62 ± 62.13	90.43 ± 31.79	< 150	0.4454
PCR (mg/L)	12.65 ± 12.79	5.96 ± 11.01	< 3.8	< 0.001
Ácido Siálico (mg/dL)	76.20 ± 16.33	50.5 ± 14.90	< 60	< 0.001
Proteínas Totales (g/dL)	7.22 ± 0.67	6.37 ± 0.83	6.0	< 0.001
Albumina (g/dL)	4.21 ± 0.83	4.19 ± 0.63	4.0	0.0140

DM2 = pacientes con diabetes mellitus tipo 2 \*valores de referencia de de la casa comercial Randox.



**Tabla 2.** Comparación de la concentración mediana de proteínas séricas carboniladas entre el grupo de pacientes con DM2 (n = 68) y el grupo control de personas aparentemente sanas (n = 19), utilizando la prueba no paramétrica de Mann-Whitney.

**Table 2.** Comparison of the median concentration of carbonylated serum proteins between T2DM patients (n = 68) and apparently healthy individuals (control subjects = 19), using the nonparametric Mann-Whitney test.

Aproximación sin Corrección				Aproximación con Corrección		
Hipótesis Alterna	Valor Z	p	Decisión (5%)	Valor Z	p	Decisión (5%)
$m_1 \neq m_2$	-2,7799	0,005437	Rechazar Ho	-2,7748	0,005524	Rechazar Ho
$m_1 < m_2$	-2,7799	0,997281	Aceptar Ho	-2,7851	0,997324	Aceptar Ho
$m_1 > m_2$	-2,7799	0,002719	Rechazar Ho	-2,7748	0,002762	Rechazar Ho

Ho = Hipótesis nula

**Tabla 3** Comparación de la concentración de proteínas séricas carboniladas entre hombres y mujeres del grupo de pacientes con DM2, por la prueba no paramétrica de Mann-Whitney.

**Table 3** Comparison of carbonylated serum protein concentration between men and women with T2DM, using the nonparametric Mann-Whitney test.

Aproximación sin Corrección				Aproximación con Corrección		
Hipótesis Alterna	Valor Z	p	Decisión (5%)	Valor Z	p	Decisión (5%)
$m_1 \neq m_2$	-1,0	0,317311	Aceptar Ho	0,0	1,0	Aceptar Ho
$m_1 < m_2$	-1,0	0,158655	Aceptar Ho	0,0	0,5	Aceptar Ho
$m_1 > m_2$	-1,0	0,841345	Aceptar Ho	-2,0	0,977250	Aceptar Ho

Ho = Hipótesis nula.

entre hombres y mujeres (Tabla 3), sin embargo, no puede descartarse la influencia del género sobre los resultados porque la edad media de las mujeres en el grupo con DM2 fue  $59,6 \pm 9,10$  años, una edad en la que frecuentemente hay deficiencia de estrógenos (Wassmann *et al.*, 2001).

Por otro lado, aunque no está claro si el aumento de la carbonilación es causa o consecuencia del envejecimiento celular, se sabe que la oxidación de proteínas (medida por carbonilación) correlaciona con la edad fisiológica de las células en diversos sistemas biológicos (Díaz-Acosta y Membrillo-Hernández, 2006); por esto, es probable que el mayor porcentaje de pacientes diabéticas posmenopáusicas (con relación al de hombres diabéticos) en el grupo problema haya sido determinante en estos resultados. En el caso

del grupo control, tampoco se observó diferencia significativa en la concentración de proteínas séricas carboniladas entre hombres y mujeres (Tabla 1), lo cual podría ser atribuido también al sesgo cuantitativo relacionado con la mayor proporción de mujeres con respecto al de hombres. Contra lo esperado por la hipótesis que relaciona directamente la edad con el estrés oxidativo celular (Standtman y Oliver, 1991), no se encontró correlación entre la edad y la concentración de proteínas séricas carboniladas en el grupo control ni en el grupo de pacientes. Nuestros resultados coinciden con los publicados en el estudio de Odetti *et al.* (1999) y lejos de contradecir tal hipótesis, podrían ser el resultado de la pequeña desviación estándar en la edad de los pacientes y controles (< 10 años), pues de acuerdo con algunos grupos de estudio, los niveles

de proteínas carboniladas aumentan con la edad, a razón de  $0,59 \text{ nmol mL}^{-1}$  por cada 10 años (Yeh *et al.*, 2008).

Por otro lado, la relación directa entre la glicemia y la concentración de proteínas carboniladas de los pacientes con DM2 ha sido plenamente demostrada y fue corroborada en el grupo de pacientes incluido en el presente estudio ( $r = 0,67$ ;  $p < 0,05$ ). La relación patogénica entre la hiperglicemia y el aumento de proteínas carboniladas está dada por el aumento en la tasa de glicación no enzimática de las proteínas y el aumento en la concentración de radicales libres, los responsables directos del ataque oxidativo a las proteínas (Odetti *et al.*, 1999; Aaseth y Stoa-Birketvedt, 2000; Perry, 2001). Esto explica la elevada prevalencia de complicaciones que se observó entre los pacientes con mal control glicémico incluidos en este estudio: el 77,9% de los pacientes tuvo valores de hemoglobina glicada por arriba de los valores aceptables ( $\text{HbA1c} < 7\%$ ) (ADA, 2011) mientras que el 75,4% presentó algún tipo de complicación, oftalmológica, renal, cardiovascular y/o vascular periférica. Cabe destacar que el 26,5% y el 17,4%, de todos los pacientes y de los pacientes complicados, respectivamente, presentaron una elevación significativa de proteínas carboniladas. Por todo esto, es probable que el aumento en la concentración de proteínas séricas carboniladas en la muestra de pacientes incluida en este estudio, haya sido el reflejo del pobre control glicémico (Tabla 1) y del estado clínico en el que se encontraban en el momento de la valoración clínica y del muestreo sanguíneo.

Finalmente, en el grupo de pacientes con DM2 se demostró una moderada correlación, aunque no significativa, entre la concentración de proteínas carboniladas y la concentración de albúmina ( $r = 0,4349$ ,  $p = 0,07$ ) que no fue observada con la concentración de proteínas totales. Cabe destacar que esta correlación sólo se encontró en pacientes con elevación de grupos carbonilos. En otros estudios, se ha observado correlación entre estos dos parámetros debida probablemente a que la albúmina es la

proteína sérica más abundante (Tirumalai *et al.*, 2003), uno de los principales antioxidantes en plasma (por masa y actividad) y por lo tanto el principal blanco del estrés oxidativo por los grupos tioles libres que posee en su estructura (Miller, 1998). Los potenciales efectos aterogénicos de los productos de Amadori de la albúmina parecen ser tan diversos como sus células blanco (células mesangiales, monocitos, macrófagos, mesoteliales, endoteliales y células del músculo liso) y pueden interaccionar con los receptores específicos en células endoteliales de la aorta, así como reducir la capacidad de replicación y la producción de colágeno del tipo IV de la membrana basal. Además, la albúmina glicada incrementa la expresión de factores inflamatorios relacionados con la aterogénesis y los daños renales (Cohen *et al.*, 1995). En este trabajo, se observó el aumento de proteína c-reactiva y de ácido siálico en los pacientes con DM2 (Tabla 1), lo cual sugiere el estado inflamatorio crónico que sufrían los pacientes estudiados y está de acuerdo con las ideas expresadas con anterioridad. Es por ello, que es importante destacar que aún cuando la correlación observada entre la concentración de proteínas carboniladas y la concentración de albúmina no haya alcanzado significancia en este estudio, existe una clara tendencia hacia la asociación de los dos parámetros, cuya significancia podría alcanzarse al incrementar la muestra de pacientes con niveles elevados de proteínas carboniladas.

## CONCLUSIONES

En este estudio se demostró el incremento significativo en la concentración de proteínas séricas carboniladas en el grupo de pacientes con DM2, que correlacionó positivamente con la glicemia. Esto sugiere la dependencia estrecha entre el control glicémico de los pacientes con DM2 y el estrés carbonílico. Se observó una tendencia correlacional entre la concentración de proteínas séricas carboniladas y la concentración de albúmina, misma que no fue observada con la concentración de proteínas totales. Por lo anterior, es probable que la albúmina haya sido la proteína más implicada en los eventos de la carbonilación en los pacientes con DM2.





A partir de estos resultados se puede inferir que los pacientes incluidos en este estudio, presentan estrés carbonílico debido a un pobre control glicémico. Los resultados obtenidos en este estudio serán de utilidad para estudiar la potencial relevancia del estrés carbonílico en el desarrollo de complicaciones en los pacientes.

## REFERENCIAS

- Aaseth, J. y Stoa-Birketvedt, G. 2000. Glutathione in overweight patients with poorly controlled type 2 diabetes. *Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*. 13: 105-111.
- ADA (American Diabetes Association). Standards of Medical Care-2011. 2011. *Diabetes Care*. 34: S11-S61.
- Behl, C., Skutella, T., Lezoualch, F., Post, A., Widmann, M., Newton, C. J. y Holsboer, F. 1997. Neuroprotection against oxidative stress by estrogens: structure, activity relationship. *Molecular Pharmacology*. 51: 535-541.
- Cade, W. T. 2008. Diabetes-related microvascular and macrovascular diseases in the physical therapy setting. *Physical Therapy*. 88: 1322-1335.
- Cohen, M. P., Hud, E., Wu, V. Y. y Ziyadeh, F. N. 1995. Glycated albumin modified by Amadori adducts modulates aortic endothelial cell biology. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 143: 73-79.
- De Cristofaro, R., Rocca, B., Vitacolonna, E., Falco, A., Marchesani, P., Ciabattini, G., Landolfi, R., Patrono, C., Davi, G. 2003. Lipid and protein oxidation contribute to a prothrombotic state in patients with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 1: 250-256.
- Dalle-Donne, I., Ranieri, R., Giustarini, D., Milzani, A., Colombo, R. 2002. Protein Carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clinica Chimica Acta*. 329: 23-38.
- Díaz-Acosta, A.E., Membrillo-Hernández, J. 2006. Consecuencias fisiológicas de la oxidación de proteínas por carbonilación en diversos sistemas biológicos. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico Biológicas*. 9: 34-44.
- Farah, R., Shurtz-Swirski, R., Lapin, O. 2008. Intensification of oxidative stress and inflammation in type 2 diabetes despite antihyperglycemic treatment. *Cardiovascular Diabetology*. 7: 20.
- Gleissner, C. A., Galkina, E., Nadler, J. L., Ley, K. 2007. Mechanisms by which diabetes increases cardiovascular disease. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*. 4: 131-140.
- Kayali, R., Telci, A., Cakatay, U., Karaca, C., Akcay, T., Sivas, A., Altug, T. 2003. Oxidative protein damage parameters in plasma in chronic experimental diabetes in rats. *European Journal of Medical Research*. 8: 307-312.
- Konokoglu, D., Kemerli, G., Sabuncu, T., Hatemi, H. H. 2002. Protein carbonyl content in erythrocyte membranes in type 2 diabetic patients. *Hormone and Metabolic Research*. 34: 367-370.
- Levine, R. L., Garland, D., Oliver, C. N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A. 1990. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology*. 186: 464-78.
- Miller, N. J. 1998. Nonvitamin plasma antioxidants. In *Free radical and antioxidant protocols*. D. Armstrong (Ed.), p. 285-297. Humana Press., New Jersey.
- Molina, D. C. 2011. Estimación del control de la dislipidemia de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 de una clínica de primer nivel de atención de Hermosillo Sonora, mediante índices lipoproteicos. Tesis de Especialización en Inmunohematología diagnóstica. Universidad de Sonora, México.
- Odeti, P., Garibaldi, S., Noberasco, G., Arango, I., Valentini, S., Traverso, N., Maarinari, U. M. 1999. Levels of carbonyl groups in plasma proteins of type 2 diabetes mellitus subjects. *Acta Diabetologica*. 36: 179-183.
- Perry, A. 2001. The role of radicals in enzymatic processes. *Chemical Record*. 1: 277-289.
- Ramakrishna, V., Jaikhani, R. 2007. Evaluation of oxidative stress in insulin dependent diabetes mellitus (IDDM) patients. *Diagnostic Pathology*. 2: 22.
- Stadtman, E. R., Oliver, C. N. 1991. Metal-catalyzed oxidation of proteins. *Journal of Biological Chemistry*. 266: 2005-2008.
- Stoscheck, C. M. 1990. Quantitation of protein. *Methods in Enzymology*. 182: 50-68.
- Tetik, S., Uras, F., Yardimci, T. 2007. Protein oxidation: basic view on characterization, detection and consequences. *Advances in Molecular Medicine*. 3: 63-67.
- Tirumalai R., Chan K., Prieto D., Issaq H., Conrads T., Veenstra T. 2003. Characterization of the low molecular weight human serum proteome. *Molecular & Cellular Proteomics*. 2: 1096-1103.
- Trullols, E., Ruisánchez, I., Rius, F. X. 2004. Validation of qualitative analytical methods. *Trends in Analytical Chemistry*. 23: 137-145.
- Wassmann, S., Bäumer, A. T., Strehlow, K., van Eickels, M., Grohé, C., Ahlbory, K., Rösen, R., Böhm, M., Nickenig, G. 2001. Endothelial dysfunction and oxidative stress during estrogen deficiency in spontaneously hypertensive rats. *Circulation*. 103: 435-441.
- Wright, E., Scism-Bacon, J. L., Glass, L. C. 2006. Oxidative stress in type 2 diabetes: the role of fasting and postprandial glycaemia. *International Journal of Clinical Practice*. 60: 308-314.
- Yeh, C. C., Graham, B. R., Powell, C. A., Mesia-Vela, S., Wang, Y., Hamade, N. K., Austin, J. H., Santella, R. M. 2008. No effect of cigarette smoking dose on oxidized plasma proteins. *Environmental Research*. 106: 219-225.