



SIMPOSIO

ESTRÉS OXIDATIVO, VINCULACIÓN ENTRE LA CIENCIA BÁSICA Y LA PRÁCTICA CLÍNICA

Resumen

Las complicaciones cardiovasculares, que se caracterizan por la disfunción endotelial y aterosclerosis acelerada, son la principal causa de morbilidad y mortalidad asociadas con la diabetes, enfermedades cardiovasculares e inflamatorias. Cada vez hay más evidencia de que la generación de exceso de radicales libres altamente reactivos -debido en gran parte a la hiperglucemia-, conduce al estrés oxidativo, que exacerba aún más el desarrollo y progresión de la diabetes y sus complicaciones. La sobreproducción y/o eliminación insuficiente de estos radicales libres da como resultado la disfunción vascular, el daño a las proteínas celulares, los lípidos de membrana y los ácidos nucleicos. A pesar de la abrumadora evidencia sobre las consecuencias perjudiciales del estrés oxidativo y su papel en la diabetes experimental, los grandes ensayos clínicos con los antioxidantes clásicos no han demostrado beneficio alguno para los pacientes diabéticos. A medida que nuestra comprensión de los mecanismos de generación de radicales libres se desarrolla, va quedando claro que, en lugar de limitarse a eliminar los radicales reactivos de oxígeno, un enfoque más amplio se encamina a prevenir la generación de estas especies reactivas. Por lo tanto, se debe aplicar nuevas estrategias con antioxidantes, tanto clásicos como nuevos, en el tratamiento de la diabetes.

Palabras clave: Antioxidantes, diabetes mellitus, estrés oxidativo.

Isaac Crespo-Retes¹,
Julissa Patricia Crespo-Pereda²,
MT Crespo-Pereda²,
MP Baiocci²

¹ Instituto de Endocrinología y Metabolismo, Escuela de Medicina Hipólito Unanue

² Médico del Instituto de Endocrinología y Metabolismo

Rev Per Ginecol Obstet. 2010;56:92-100

Oxidative stress, link between basic sciences and clinical practice

ABSTRACT

Cardiovascular complications, characterized by endothelial dysfunction and accelerated atherosclerosis, are the leading cause of diabetes-associated morbidity and mortality. There is growing evidence that excess generation of highly reactive free radicals, largely due to hyperglycemia, causes oxidative stress, which further exacerbates the development and progression of diabetes and its complications. Overproduction and/or insufficient removal of these free radicals result in vascular dysfunction and damage to cellular proteins, membrane lipids and nucleic acids. Despite overwhelming evidence on the damaging consequences of oxidative stress and its role in experimental diabetes, large scale clinical trials with classic antioxidants

failed to demonstrate any benefit for diabetic patients. As our understanding of the mechanisms of free radical generation evolves, it is becoming clear that rather than merely scavenging reactive radicals, a more comprehensive approach aimed at preventing the generation of these reactive species as well as scavenging may prove more beneficial. Therefore, new strategies with classic as well as new antioxidants should be implemented in the treatment of diabetes.

Key words: Antioxidants, diabetes mellitus, oxidative stress

INTRODUCCIÓN

Dado que numerosos estudios demuestran que el estrés oxidativo, mediado principalmente por la

hiperglucemia inducida por la generación de radicales libres, contribuye al desarrollo y progresión de la diabetes y las contribuciones correspondientes, se puso de manifiesto que el estrés oxidativo aminorado mediante el tratamiento con antioxidantes puede ser una estrategia efectiva para reducir las complicaciones de la diabetes. Sin embargo, estos estudios no han demostrado tener beneficios clínicos relevantes en las enfermedades cardiovasculares^[1,2]. Los resultados negativos de los ensayos clínicos con antioxidantes piden nuevos estudios centrados



en los mecanismos de estrés oxidativo en la diabetes, con el fin de desarrollar una terapia antioxidante causal. En esta revisión, nos referiremos a las fuentes de radicales libres que contribuyen al estrés oxidativo y la evidencia experimental y clínica con respecto a la utilización de antioxidantes.

¿QUÉ ES EL ESTRÉS OXIDATIVO?

El estrés oxidativo se define en general como la formación superior y/o eliminación insuficiente de las moléculas altamente reactivas como las especies reactivas del oxígeno (EROS) y las especies reactivas de nitrógeno (ERNs) [3,4]. Las EROS incluyen radicales libres, como el superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$), hidroxilo ($\cdot\text{OH}$), peroxilo ($\cdot\text{RO}_2$), hidroperoxilo ($\cdot\text{HRO}_2^-$), así como las especies no radicales, como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el ácido hidrocloruro (HOCl) [3,5]. La ERNS incluyen radicales libres como el óxido nítrico ($\cdot\text{NO}$) y dióxido de nitrógeno ($\cdot\text{NO}_2$), así como no radicales como el peroxinitrito (ONOO^-), el óxido nitroso (HNO_2) y peroxinitratos de alquilo (RONOO) [3,5]. De estas moléculas reactivas, $\cdot\text{O}_2^-$, $\cdot\text{NO}$ y ONOO^- son las especies más estudiadas y tienen un papel importante en las complicaciones cardiovasculares.

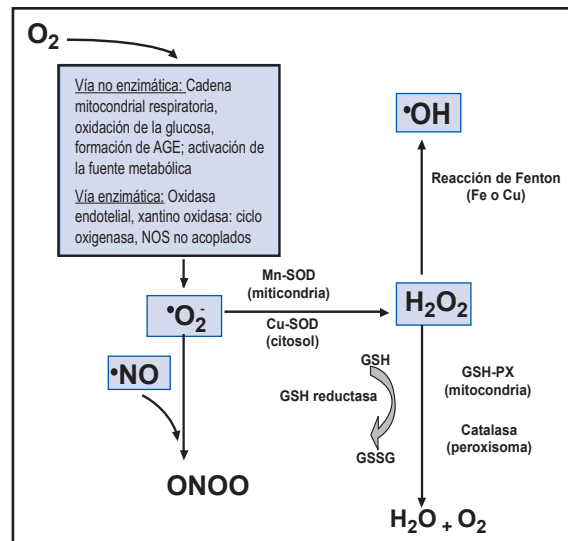
El $\cdot\text{NO}$ se produce normalmente a partir de L-arginina por acción de la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) [3]. El $\cdot\text{NO}$ media la vasorrelajación dependiente del endotelio, por su acción sobre la guanilato ciclasa en células musculares lisas vasculares (CMLV).

El $\cdot\text{NO}$ también muestra las propiedades antiproliferativas e inhibe la adhesión de plaquetas y leucocitos al endotelio vascular [3]. Por lo tanto, el $\cdot\text{NO}$ es considerado una molécula vasculo-protectora. Sin embargo, el $\cdot\text{NO}$ reacciona fácilmente con el superóxido, generando el ONOO^- , molécula altamente reactiva, y desencadena una cascada de eventos perjudiciales [3,6]. Por lo tanto, su composición química en el medio ambiente, es decir, la presencia de $\cdot\text{O}_2^-$, determina si el $\cdot\text{NO}$ ejerce efectos protectores o nocivos.

La producción de EROS o ERNs puede conducir a la producción de otros a través de reacciones en cadena de radicales, como se resume en la figura 1. El $\cdot\text{O}_2^-$ es producido por la reducción de un electrón del oxígeno por varias oxididas diferentes, incluyendo NAD(P)H oxidasa, la xantino oxidasa, ciclooxigenasa e incluso eNOS en determinadas condiciones, así como por la cadena de transporte electrónico mitocondrial en el transcurso de la fosforilación oxidativa normal, que es esencial para la generación de $\text{ATP}^{(7,8)}$. En condiciones normales, el $\cdot\text{O}_2^-$ es rápidamente eliminado por los mecanismos de defensa antioxidante. El $\cdot\text{O}_2^-$ es convertido a H_2O_2 por la superóxido dismutasa de manganeso (Mn-SOD), en la mitocondria, y por

la superóxido dismutasa de cobre (Cu)-SOD en el citosol [7]. El H_2O_2 se convierte en H_2O y O_2 por la glutatión peroxidasa (GSH-Px) y catalasa en las mitocondrias y los lisosomas, respectivamente. El H_2O_2 también se puede convertir en el radical altamente reactivo $\cdot\text{OH}$, en presencia de elementos de transición.

Figura 1. La generación de especies reactivas. Destacados en gris son algunos de los EROS y ERNs más importantes en las células vasculares. El oxígeno se convierte en $\cdot\text{O}_2^-$ a través de la activación de los mecanismos enzimáticos y no enzimáticos.



¿POR QUÉ SON LAS ESPECIES REACTIVAS PERJUDICIALES?

Mientras las EROS se generan en condiciones fisiológicas y están involucradas en cierta medida como moléculas de señalización y mecanismos de defensa -como se ve en la fagocitosis, función de los neutrófilos y del esfuerzo constante por inducir la vasorrelajación-, la generación de exceso de estrés oxidativo tiene consecuencias patológicas, como el daño a las proteínas, los lípidos y el ADN.

Las EROS pueden estimular la oxi-



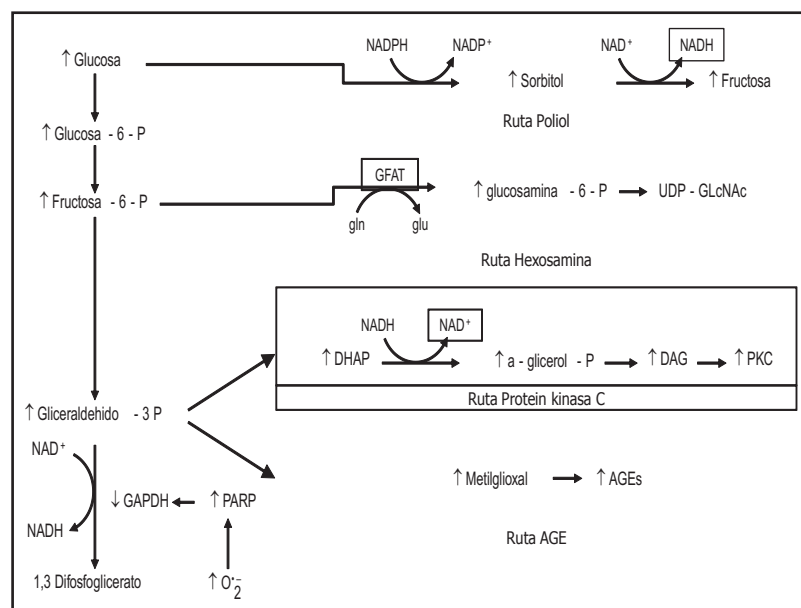
dación de las lipoproteínas de densidad baja (LDL), y el LDL que no es reconocido por el receptor de LDL, puede ser tomado por los receptores barrenderos de los macrófagos que los conduce a la formación de células espumosas y placas de aterosclerosis [9]. El $\bullet\text{O}_2^-$ puede activar varias vías perjudiciales, incluyendo la formación acelerada de productos de glicación avanzada (AGE), vía de los polioles, vía de hexosamina y PKC,

todos los cuales han demostrado estar involucrados en complicaciones micro y macrovasculares (Figura 2). Los $\bullet\text{O}_2^-$ y H_2O_2 estimulan los mecanismos de señalización relacionados con el estrés, tales como NF- κB , p38 MAPK y JAK-STAT, resultantes de la migración y la proliferación de las células de músculo liso vasculares (CMLV). En las células endoteliales, el H_2O_2 interviene en la apoptosis y angiogénesis patológicas [8].

tosa correspondiente), seguido por la formación de productos avanzados de glicación (AGEs). Los EROs se generan en varios pasos durante este proceso. En la hiperglucemia, hay un mayor metabolismo de la glucosa a través de la vía del poliol (sorbitol), lo que también provoca una mayor producción de $\bullet\text{O}_2^-$.

Las fuentes de generación enzimática aumentada de las especies reactivas en la diabetes incluyen los sistemas óxido nitroso (NOS), la dinucleótido de nicotinamida adenina (NAD(P)H oxidasa y xantina oxidasa [11,12,14]. Todas las isoformas de las NOS requieren cinco cofactores o grupos prostéticos, como la flavina adenina dinucleótido (FAD), la flavina mononucleótido (FMN), hemo, BH_4 y Ca^{2+} -calmodulina. Si NOS carece de su sustrato L-arginina o uno de sus adjuntos, NOS puede producir $\bullet\text{O}_2^-$ en lugar de $\bullet\text{NO}$ y esto se conoce como el estado desacoplado de la NOS [4,11,12,14]. La oxidasa NAD(P)H es una enzima asociada a la membrana que consta de cinco subunidades, fuente importante de producción de $\bullet\text{O}_2^-$ [11,12,15,16]. Guzik y cols. han comunicado en las muestras vasculares de pacientes diabéticos y las fuentes de sondeo de $\bullet\text{O}_2^-$ con el uso de inhibidores de la NOS, la NAD(P)H oxidasa, la xantina oxidasa y la cadena de transporte electrónico mitocondrial que existe una mayor producción de $\bullet\text{O}_2^-$ en la diabetes y esto es principalmente mediado por NAD(P)H oxidasa. Por otra parte, el componente NOS es mayor en pacientes con diabetes que en los pacientes que no tienen diabetes [13]. No es plausible que la proteína quinasa C (PKC), que se estimula en la diabetes a través de múltiples mecanismos, es decir, vía de los polioles y Ang II, active la NAD(P)H oxidasa [17].

Figura 2. La sobreproducción mitocondrial de superóxido activa cuatro rutas principales de daño por hiperglucemia, por inhibición de GAPDH.



¿CUÁLES SON LAS FUENTES DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN LA DIABETES?

La evidencia directa del estrés oxidativo en la diabetes se basa en estudios que se centraron en la medición de marcadores de estrés oxidativo como el plasma y la orina F2-isoprostanos, así como de plasma y los niveles tisulares de nitrotirosina y $\bullet\text{O}_2^-$ [6,10,13]. Existen múltiples fuentes de estrés oxidativo en la diabetes, incluyendo vías no enzimáticas, enzimáticas y mitocondriales.

Las fuentes no enzimáticas de estrés oxidativo se originan en la bioquímica de la oxidación de la glucosa. La hiperglucemia puede directamente causar un aumento en la generación de EROs. La glucosa puede sufrir autooxidación y generar radicales $\bullet\text{OH}$ [8]. Además, la glucosa reacciona con las proteínas de una manera no enzimática que conduce al desarrollo de productos de Amadori (reacción orgánica que describe la isomerización catalizada ácido o de base o reacción de rearrreglo de la N-glicósido de una aldosa o la glicosamina de la 1-amino-1-dexoi-ke-



La cadena respiratoria mitocondrial es otra fuente de generación no enzimática de las especies reactivas. Durante el proceso de fosforilación oxidativa, los electrones son transferidos de los transportadores de electrones nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) y 1,5-dihidro-FAD (FADH₂) al oxígeno, a través de cuatro complejos en la membrana mitocondrial interna, generando ATP en el proceso [17]. En condiciones normales, el $\bullet\text{O}_2^-$ es inmediatamente eliminado por los mecanismos de defensa naturales. Un estudio reciente ha demostrado que la hiperglucemia inducida por la generación de $\bullet\text{O}_2^-$ a nivel mitocondrial es el desencadenante inicial del círculo vicioso del estrés oxidativo en la diabetes [18,19].

Lo más importante es que el bloqueo de radicales $\bullet\text{O}_2^-$ -por tres enfoques diferentes, con ayuda de una pequeña

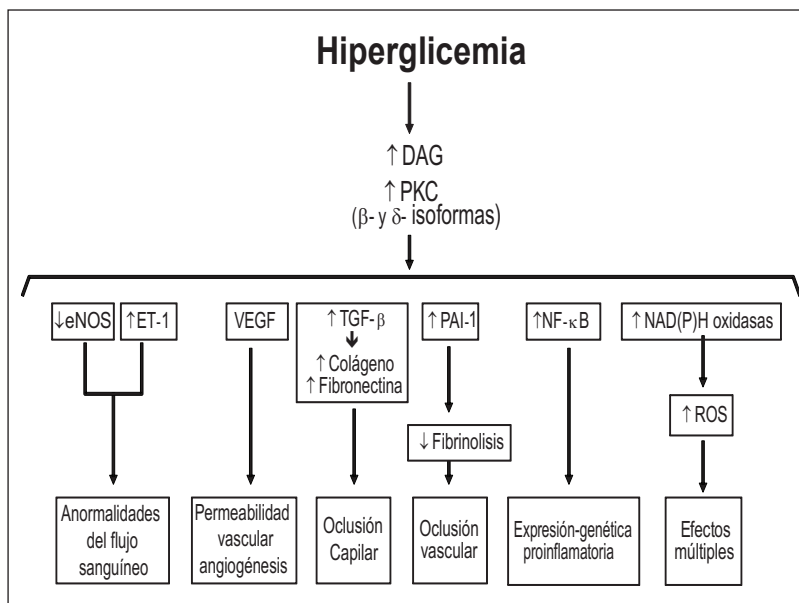
molécula desacopladora de la fosforilación oxidativa mitocondrial (CCCCP), la sobreexpresión de la proteína desacoplante-1 (UCP1) o la sobreexpresión de Mn-SOD-impide los cambios en la NF- κB , así como vía de los polioles, la formación de AGE y actividad de la PKC. Con base en esta información, varios grupos han postulado que la acción del $\bullet\text{O}_2^-$ mitocondrial es iniciar la bola de nieve que convierte el estrés oxidativo en una avalancha en la diabetes, mediante la estimulación de la producción de EROs y más RNS, por la activación de NF- κB , mediada por la producción de citoquinas, PkC y NAD(P)H oxidasa (figura 3)[1]. Por lo tanto, la inhibición de la formación de radicales libres intracelulares proporcionaría un método de terapia causal en la prevención del estrés oxidativo relacionado con las complicaciones vasculares en la diabetes.

una retroalimentación positiva sobre la síntesis de EROs y ERNs y potencia la disfunción vascular mediada por PKC, alterando la expresión génica, así como la función vascular y la estructura.

¿EXISTEN DEFENSAS NATURALES CONTRA EL ESTRÉS OXIDATIVO?

Las especies reactivas pueden ser eliminadas mediante una serie de mecanismos antioxidantes, enzimáticos y no enzimáticos. Como se mencionó anteriormente, la SOD convierte de inmediato $\bullet\text{O}_2^-$ a H_2O_2 , que luego se desintoxica formando agua, ya sea por la catalasa en los lisosomas o por la glutatión peroxidasa en las mitocondrias (figura 1). Otra enzima que es importante es la glutatión reductasa, que regenera el glutatión que se utiliza como donante de hidrógeno por la glutatión peroxidasa durante la eliminación de H_2O_2 . Maritim y sus colegas han examinado recientemente en detalle que la diabetes tiene múltiples efectos en los niveles de proteínas y la actividad de estas enzimas, lo que aumenta el estrés oxidativo al provocar una respuesta de defensa suprimida [4]. Por ejemplo, en modelos experimentales de diabetes, en el corazón, que es un objetivo importante en la diabetes, y la propensión a la miocardiopatía diabética que lleva a insuficiencia cardíaca crónica, la SOD y la expresión y actividad de la glutatión peroxidasa se reducen, mientras que la catalasa se incrementa [4,21,22]. En pacientes con insuficiencia cardíaca crónica, las tres enzimas están disminuidas en el músculo liso [22]. Y el entrenamiento con ejercicios puede aumentar la expresión y actividad de las enzimas antioxidantes. El aumento de los niveles de isoprostanos en pacientes

Figura 3. Consecuencias de la activación de PKC inducida por hiperglucemia.



El exceso de generación de EROs mitocondrial debido a la hiperglucemia inicia un círculo vicioso mediante la activación de las vías sensibles al estrés, como el NF-

κB , p38 MAPK y JAK/STAT, poliol (sorbitol) y las vías hexosamina, PKC y la edad. La mejora de la producción de AGEs, sorbitol y citoquinas proinflamatorias ejerce



diabéticos con insuficiencia cardíaca crónica se correlaciona con el estado antioxidante y la severidad de la enfermedad [23]. Por lo tanto, la modulación de estas enzimas en los órganos diana propensos a las complicaciones diabéticas, como el corazón y el riñón, puede resultar beneficiosa en la prevención y el tratamiento de la insuficiencia cardíaca y la insuficiencia renal.

Los antioxidantes no enzimáticos incluyen las vitaminas A, C y E, glutatión, el ácido α lipoico, los carotenoides, oligoelementos como el cobre, el zinc y el selenio, la coenzima Q_{10} (Co Q_{10}), y cofactores, como el ácido fólico, ácido úrico, albúmina y vitaminas del grupo B_1 , B_2 , B_6 y B_{12} . Recientemente se ha revisado las alteraciones en el sistema de defensa antioxidante en la diabetes [6]. El glutatión (GSH) actúa como un limpiador directo, así como un co-sustrato de la peroxidasa de GSH. Se trata de un importante sistema tampón redox intracelular. La vitamina E es una vitamina soluble en grasa que impide la peroxidación de lípidos. Existe en 8 formas diferentes, de las cuales α -tocoferol es la forma más activa en los humanos. El radical hidroxilo reacciona con la formación de un radical tocoferol fenólico estabilizado que se reduce nuevamente a fenol por el ascorbato y NAD(P)H, enzimas dependientes de la reductasa [24,25]. La Co Q_{10} es un compuesto sintetizado endógenamente que actúa como un transportador de electrones en el complejo II de la cadena electrónica de transporte mitocondrial. Brownlee y col. informaron que este es el sitio de generación de $\bullet O_2^-$ bajo condiciones de hiperglucemia [18,19]. La Co Q_{10} es un antioxidante liposoluble y, en con-

centraciones mayores, destruye los $\bullet O_2^-$ y mejora la disfunción endotelial en la diabetes [26,27]. La vitamina C (ácido ascórbico) aumenta la producción de NO en las células endoteliales mediante la estabilización del cofactor NOS BH $_4$ [28]. El ácido α lipoico es un antioxidante hidrofílico y por lo tanto puede ejercer efectos beneficiosos, tanto en ambientes acuosos como lipídicos. El ácido α lipoico se reduce a otro compuesto activo dihidrolipoato. El dihidrolipoato es capaz de regenerar otros antioxidantes, como la vitamina C, vitamina E y el glutatión reducido, mediante el ciclo redox [28]. Los estudios experimentales y clínicos son resumidos en las siguientes secciones, utilizando los antioxidantes naturales, especialmente las vitaminas C, E y el ácido α lipoico, a fin de delinear el papel del estrés oxidativo en el desarrollo de las complicaciones vasculares de la diabetes.

LA EVIDENCIA DE LOS ENSAYOS CLÍNICOS

Aunque los estudios con antioxidantes en modelos experimentales, así como los estudios observacionales, sugieren que los antioxidantes confieren efectos benéficos en la reducción de complicaciones cardiovasculares en la diabetes, la evidencia clínica para el uso de antioxidantes no es sólida. Cabe destacar que los ensayos clínicos con antioxidantes en la diabetes son limitados y la mayoría de estos ensayos se centró en el uso de las vitaminas E y C y, últimamente, al ácido α lipoico. Por lo tanto, vamos a tratar de los ensayos clínicos con los antioxidantes utilizados.

Los ensayos pequeños con la vitamina E han demostrado efectos be-

neficiosos cardiovasculares. En un estudio aleatorio doble ciego, controlado con placebo, la suplementación con vitamina E (1 000 UI/día) durante tres meses, en pacientes con diabetes tipo 1 ($n = 41$), mejoró significativamente la vasorrelajación dependiente del endotelio [29]. En otro estudio, Beckman y col. informaron que la administración combinada de vitamina E (800 UI/día) y C (1 000 mg/día), a los seis meses tuvo un efecto positivo en la vasorrelajación dependiente del endotelio en pacientes diabéticos tipo 1 ($n = 26$), pero no tuvo efecto en la diabetes tipo 2 ($n = 23$) [30]. Gaede y col. informaron que la combinación de vitamina E (680 mg/día) y C (1 250 mg/día) mejoró significativamente la función renal en la diabetes tipo 2 [31].

En otros ensayos clínicos a mayor escala, los resultados incluyen la Evaluación de la Prevención del Corazón (HOPE) [32], la prevención secundaria con antioxidantes de la enfermedad cardiovascular en enfermedad renal terminal (SPACE) [33], el Steno (Centro de Diabetes Steno, establecido en 1991 como resultado de la fusión de los hospitales Niels Steensens y Hvidøre de Copenhague) [34], el Proyecto de Prevención Primaria (PPP) [35] y el Estudio de Evaluación de la carótida con ecografía en pacientes tratados con ramipril y vitamina E (SECURE) [36].

En el estudio HOPE, los pacientes reclutados tenían 55 años de edad o más y tenían riesgo alto de enfermedad cardiovascular y hubo un número significativo de pacientes con diabetes. Este estudio tuvo un diseño factorial 2×2 , donde en un brazo los pacientes fueron asignados aleatoriamente a la



vitamina E (400 UI/día) o placebo, y en la otra rama, a ramipril (10 mg/día) o placebo ^[32]. Los resultados con la vitamina E y ramipril fueron evaluados por separado con respecto a los grupos placebo respectivos. En el grupo de vitamina E, 4 761 pacientes recibieron vitamina E y 4 780 placebo. En los grupos de tratamiento y placebo, el número de pacientes con diabetes fue de 1 838 y 1 816, respectivamente. El punto final primario fue una combinación de infarto de miocardio, ictus y muerte por causas cardiovasculares. El ensayo fue interrumpido por razones éticas, después de 4,5 años de seguimiento, por recomendación de un consejo independiente de control de la seguridad, basada en los efectos beneficiosos del ramipril sobre los eventos cardiovasculares y la falta de efecto de tratamiento en el grupo de vitamina E. Los resultados del estudio fueron publicados en el año 2000 y demostró que no hubo diferencia significativa en el resultado primario entre la vitamina E y el grupo placebo ^[32]. Los análisis de las variables secundarias del estudio, que incluyó la mortalidad total, las hospitalizaciones por insuficiencia cardíaca y angina inestable, revascularización y nefropatía, han sido publicados recientemente ^[37] y, otra vez, los suplementos con vitamina E durante 4,5 años no proporcionaron beneficio alguno en los resultados cardiovasculares o nefropatía. También, se informó que no hubo eventos adversos significativos asociados con la vitamina E. El estudio HOPE fue el ensayo más grande para el uso de antioxidantes en la diabetes.

El estudio SECURE fue diseñado como un subestudio del ensayo HOPE, para evaluar los efectos del

tratamiento a largo plazo con ramipril y vitamina E en la progresión de la aterosclerosis en pacientes de riesgo alto. En este ensayo, 732 pacientes que tenían enfermedad vascular o diabetes fueron asignados al azar a dos dosis de 2,5 o 10 mg/d de ramipril y vitamina E (400 UI/día) o placebo y la progresión de la aterosclerosis fue monitoreada por ultrasonido carotídeo modo B. Mientras ramipril disminuyó los cambios ateroscleróticos, la vitamina E no tuvo efecto en relación al grupo placebo.

En el estudio SPACE reclutaron 196 pacientes sometidos a hemodiálisis y con enfermedad cardiovascular preexistente, que fueron asignados a placebo (n = 99) u 800 UI/día de vitamina E (n = 97), durante 2 años; 43% de los pacientes en cada grupo padecía diabetes. El punto final primario fue una combinación de infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, enfermedad arterial periférica o angina inestable. Hubo una disminución de 46% en los acontecimientos principales en el grupo de vitamina E y esto se debió principalmente a una reducción de 70% en infarto de miocardio total ^[33].

El estudio PPP fue un ensayo aleatorio con un diseño de 2 × 2 para evaluar el efecto de dosis bajas de aspirina (100 mg/día) y vitamina E (300 mg/día) sobre la prevención de complicaciones cardiovasculares en pacientes de riesgo alto. Al igual que los estudios anteriores, el punto final primario fue una combinación de, muerte cardiovascular, infarto de miocardio o accidente cerebrovascular. De los 4 784 pacientes reclutados, 1 031 tuvieron diabetes. El estudio PPP fue detenido prematuramente por

las recomendaciones de un consejo independiente de datos y control de la seguridad basada en los efectos beneficiosos de la aspirina con relación al grupo placebo. Sin embargo, no hubo un efecto significativo del tratamiento con vitamina E, ya sea en los sujetos diabéticos o no diabéticos.

Por último, el estudio Steno-2 comparó el efecto de una terapia multifactorial intensiva (n = 80) con el del tratamiento convencional (n = 80) sobre los factores de riesgo modificables de la enfermedad cardiovascular en pacientes con diabetes tipo 2 ^[34]. En el grupo de tratamiento intensivo, los pacientes recibieron tratamiento farmacológico específico para la hiperglucemia, dislipidemia, hipertensión y microalbuminuria, incluyendo los suplementos diarios de vitamina C (250 mg), E (100 mg), ácido fólico (400 mg) y el picolinato de cromo (100 mg), así como modificación conductual, incluyendo una dieta baja en grasas, hacer ejercicio y dejar de fumar. El grupo control recibió la terapia convencional que se recomienda en las guías nacionales. La terapia intensiva dio lugar a una disminución de casi el 50% en el riesgo de eventos cardiovasculares, que justificarían que un enfoque multifactorial es superior a la terapia convencional para la prevención del estrés oxidativo inducido por las complicaciones vasculares en la diabetes.

El ácido α -lipoico está aprobado para el tratamiento de la neuropatía diabética y los resultados son más prometedores que los obtenidos con la vitamina E. En el estudio de ácido alfa lipoico en la neuropatía diabética (ALADIN), la infusión de



ácido α -lipoico (>600 mg) mejoró significativamente los síntomas del paciente^[38]. El Estudio ALADIN II demostró que, a largo plazo (24 meses), el uso de ácido α -lipoico (600 mg o 1 200) mejora la función nerviosa^[39]. El ALADIN III, multicéntrico y aleatorizado con placebo doble ciego y controlado, mostró en una cohorte de 509 pacientes, a quienes se administró 600 mg de ácido α -lipoico durante 6 meses, mejoró la puntuación de deterioro de la neuropatía, tan pronto como en 19 días, manteniéndose hasta 7 meses^[40]. El DEKAN (*Deutsche Kardiale Autonome Neuropathie*) evaluó durante 4 meses el efecto de 800 mg de ácido α lipoico o placebo en pacientes diabéticos con neuropatía autonómica cardíaca y mostró que la variabilidad del ritmo cardíaco -un indicador de la neuropatía autonómica cardíaca- mejoró significativamente con el tratamiento de ácido α lipoico^[41]. El estudio SYDNEY investigó el efecto del ácido α lipoico en el tratamiento de síntomas de sensibilidad de la polineuropatía diabética, evaluado por el total contable del síntoma. La administración de este antioxidante durante un período de tres semanas mejoró los síntomas sensoriales, como el dolor, picazón y adormecimiento^[42]. Un reciente metaanálisis de ensayos con el ácido α lipoico concluyó que el tratamiento con α - ácido lipoico (600 mg/día) intravenoso durante un período de tres semanas es seguro y eficaz en la mejora de los síntomas neuropáticos positivos, así como con el déficit neuropático^[43].

En resumen, los ensayos clínicos con antioxidantes convencionales en pacientes diabéticos son limitados. Para los principales resultados

cardiovasculares, la vitamina E no aporta beneficio alguno. Sin embargo, cuando la población de estudio se limitó a los pacientes diabéticos con neuropatía diabética, el ácido α lipoico ha demostrado ser eficaz. Este antioxidante puede ser una opción viable en ensayos que se centran en los resultados cardiovasculares en la diabetes.

Además, de los muchos antioxidantes examinados anteriormente, una serie de medicamentos de uso común han demostrado una prometedora actividad antioxidante, además de su actividad farmacológica primaria. Estos medicamentos incluyen las tiazolidinedionas (TZD), inhibidores de la HMG-CoA reductasa (estatinas), melatonina, CoQ y los inhibidores del sistema renina-angiotensina.

Los inhibidores de la actividad de la angiotensina II (Ang II), tales como los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) y los bloqueadores del receptor de angiotensina II (ARA II), han mostrado algunos efectos beneficiosos que pueden derivarse de sus propiedades antioxidantes. Se ha demostrado que la angiotensina II aumenta los niveles de EROs en estudios con animales, a través de la estimulación de la actividad de NAD(P)H oxidasa^[8,44]. Los estudios han sugerido que este efecto también se produce en los seres humanos^[44-46]. La Ang II también ha sido implicada en la regulación de la expresión del receptor de LOX-1, que es específico para el colesterol LDL oxidado. La inhibición de la generación de Ang II, ya sea por IECA o ARA II, por lo tanto, debe atenuar estos procesos nocivos. De hecho, Berry y col. han demostrado

que el tratamiento con IECA o ARA II disminuye los niveles de $\bullet\text{O}_2^-$ en el sistema vascular humano^[47].

En resumen, muchos de los agentes que son un pilar en el tratamiento farmacológico de la diabetes han demostrado que tienen propiedades antioxidantes, además de sus acciones farmacológicas primarias. Esas propiedades antioxidantes pueden ser un factor que contribuye a la eficacia terapéutica de estos agentes.

Dado el número de deficiencias en los ensayos clínicos, parece claro que la investigación sobre el uso de antioxidantes en la prevención de complicaciones cardiovasculares en la diabetes es necesaria y recomendable. Desde un punto de vista clínico, sin embargo, los esfuerzos para la prevención de complicaciones de la diabetes deben tratar de maximizar los beneficios con estrategias terapéuticas probadas, incluidos los cambios de estilo de vida y controlar la presión arterial, glucosa en la sangre y los lípidos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care*. 1996;19(3):257-67.
2. Ceriello A, Motz E. Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24(5):816-23.
3. Turko IV, Marcondes S, Murad F. Diabetes-associated nitration of tyrosine and inactivation of succinyl-CoA:3-oxoacid CoA-transferase. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2001;281(6):H2289-94.
4. Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB 3rd. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: A review. *J Biochem Mol Toxicol*. 2003;17(1):24-38.



5. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocr Rev.* 2002;23(5):599-622.
6. Vega-Lopez S, Devaraj S, Jialal I. Oxidative stress and antioxidant supplementation in the management of diabetic cardiovascular disease. *J Investig Med.* 2004;2(1):24-32.
7. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and {beta}-cell dysfunction? *Diabetes.* 2003;52(1):1-8.
8. Taniyama Y, Griendling KK. Reactive oxygen species in the vasculature: Molecular and cellular mechanisms. *Hypertension.* 2003;42(6):1075-81.
9. Boullier A, Bird DA, Chang MK, Dennis EA, Friedman P, Gillotre-Taylor K, Horkko S, Palinski W, Quehenberger O, Shaw P, et al. Scavenger receptors, oxidized LDL, and atherosclerosis. *Ann NY Acad Sci.* 2001;947:214-22.
10. Oberg BP, McMenamin E, Lucas FL, McMonagle E, Morrow J, Ikizler TA, Himmelfarb J. Increased prevalence of oxidant stress and inflammation in patients with moderate to severe chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2004;65(3):1009-16.
11. Guzik TJ, West NE, Black E, McDonald D, Ratnatunga C, Pillai R, Channon KM. Vascular superoxide production by NAD(P)H oxidase: association with endothelial dysfunction and clinical risk factors. *Circ Res.* 2000;86(9):E85-90.
12. Guzik TJ, Mussa S, Gastaldi D, Sadowski J, Ratnatunga C, Pillai R, Channon KM. Mechanisms of increased vascular superoxide production in human diabetes mellitus: role of NAD(P)H oxidase and endothelial nitric oxide synthase. *Circulation.* 2002;105(14):1656-62.
13. Ceriello A, Mercuri F, Quagliaro L, Assaloni R, Motz E, Tonutti L, Taboga C. Detection of nitrotyrosine in the diabetic plasma: evidence of oxidative stress. *Diabetologia.* 2001;44(7):834-8.
14. Aliciguzel Y, Ozen I, Aslan M, Karayalcin U. Activities of xanthine oxidoreductase and antioxidant enzymes in different tissues of diabetic rats. *J Lab Clin Med.* 2003;142(3):172-7.
15. Kitada M, Koya D, Sugimoto T, Isono M, Araki S, Kashiwagi A, Haneda M. Translocation of glomerular p47phox and p67phox by protein kinase C-beta activation is required for oxidative stress in diabetic nephropathy. *Diabetes.* 2003;52(10):2603-14.
16. Etoh T, Inoguchi T, Kakimoto M, Sonoda N, Kobayashi K, Kuroda J, Sumimoto H, Nawata H. Increased expression of NAD(P)H oxidase subunits, NOX4 and p22phox, in the kidney of streptozotocin-induced diabetic rats and its reversibility by interventional insulin treatment. *Diabetologia.* 2003;46(10):1428-37.
17. Amiri F, Shaw S, Wang X, Tang J, Waller JL, Eaton DC, Marrero MB. Angiotensin II activation of the JAK/STAT pathway in mesangial cells is altered by high glucose. *Kidney Int.* 2002;61(5):1605-16.
18. Green K, Brand MD, Murphy MP. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. *Diabetes.* 2004;53(Suppl 1):S110-S118.
19. Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y, Yorek MA, Beebe D, Oates PJ, Hammes HP, et al. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature.* 2000;404(6779):787-90.
20. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature.* 2001;414(6865):813-20.
21. Kaul N, Siveski-Illkovic N, Hill M, Khaper N, Seneviratne C, Singal PK. Probuco treatment reverses antioxidant and functional deficit in diabetic cardiomyopathy. *Mol Cell Biochem.* 1996;160-161:283-8.
22. Hayden MR, Tyagi SC. Myocardial redox stress and remodeling in metabolic syndrome, type 2 diabetes mellitus, and congestive heart failure. *Med Sci Monit.* 2003;9(7):SR35-52.
23. Linke A, Adams V, Schulze PC, Erbs S, Gielen S, Fiehn E, Mobius-Winkler S, Schubert A, Schuler G, Hambrecht R. Antioxidative effects of exercise training in patients with chronic heart failure: increase in radical scavenger enzyme activity in skeletal muscle. *Circulation.* 2005;111(14):1763-70.
24. Cristina Polidori M, Pratico D, Savino K, Rokach J, Stahl W, Mecocci P. Increased F2 isoprostane plasma levels in patients with congestive heart failure are correlated with antioxidant status and disease severity. *J Card Fail.* 2004;10(4):334-8.
25. Hensley K, Robinson KA, Gabbita SP, Salsman S, Floyd RA. Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury. *FreeRadicBiolMed.* 2000;28(10):1456-62.
26. Hensley K, Benaksas EJ, Bolli R, Comp P, Grammas P, Hamdheydari L, Mou S, Pye QN, Stoddard MF, Wallis G, et al. New perspectives on vitamin E: gamma-tocopherol and carboxyethylhydroxychroman metabolites in biology and medicine. *Free Radic Biol Med.* 2004;36(1):1-15.
27. Hodgson JM, Watts GF, Playford DA, Burke V, Croft KD. Coenzyme Q10 improves blood pressure and glycaemic control: a controlled trial in subjects with type 2 diabetes. *Eur J Clin Nutr.* 2002;56(11):1137-42.
28. Watts GF, Playford DA, Croft KD, Ward NC, Mori TA, Burke V. Coenzyme Q(10) improves endothelial dysfunction of the brachial artery in Type II diabetes mellitus. *Diabetologia.* 2002;45(3):420-6.
29. Heller R, Unbehauen A, Schellenberg B, Mayer B, Werner-Felmayer G, Werner ER. L-ascorbic acid potentiates endothelial nitric oxide synthesis via a chemical stabilization of tetrahydrobiopterin. *J Biol Chem.* 2001;276(1):40-7.
30. Skyrme-Jones RA, O'Brien RC, Berry KL, Meredith IT. Vitamin E supplementation improves endothelial function in type I diabetes mellitus: a randomized, placebo-controlled study. *J Am Coll Cardiol.* 2000;36(1):94-102.
31. Beckman JA, Goldfine AB, Gordon MB, Garrett LA, Keaney JF Jr, Creager MA. Oral antioxidant therapy improves endothelial function in Type 1 but not Type 2 diabetes mellitus. *Am J Physiol.* 2003;285(6):H2392-8.
32. Gaede P, Poulsen HE, Parving HH, Pedersen O. Double-blind, randomised study of the effect of combined treatment with vitamin C and E on albuminuria in type 2 diabetic patients. *Diabet Med.* 2001;18(9):756-60.
33. Yusuf S, Dagenais G, Pogue J, Bosch J, Sleight P. Vitamin E



- supplementation and cardiovascular events in high-risk patients. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med.* 2000;342(3):154-60.
34. Boaz M, Smetana S, Weinstein T, Matas Z, Gafter U, Iaina A, Knecht A, Weissgarten Y, Brunner D, Fainaru M, et al. Secondary prevention with antioxidants of cardiovascular disease in endstage renal disease (SPACE): randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2000;356(9237):1213-8.
35. Gaede P, Vedel P, Larsen N, Jensen GVH, Parving H-H, Pedersen O. Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with Type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 2003;348(5):383-93
36. Sacco M, Pellegrini F, Roncaglioni MC, Avanzini F, Tognoni G, Nicolucci A. Primary prevention of cardiovascular events with low-dose aspirin and Vitamin E in Type 2 diabetic patients: Results of the Primary Prevention Project (PPP) trial. *Diabetes Care.* 2003;26(12):3264-72.
37. Lonn EM, Yusuf S, Dzavik V, Doris CI, Yi Q, Smith S, Moore-Cox A, Bosch J, Riley WA, Teo KK. Effects of ramipril and vitamin E on atherosclerosis: The study to evaluate carotid ultrasound changes in patients treated with ramipril and vitamin E (SECURE). *Circulation.* 2001;103(7):919-25.
38. Lonn E, Yusuf S, Hoogwerf B, Pogue J, Yi Q, Zinman B, Bosch J, Dagenais G, Mann JFE, Gerstein HC. Effects of vitamin E on cardiovascular and microvascular outcomes in high-risk patients with diabetes: Results of the HOPE study and MICRO-HOPE substudy. *Diabetes Care.* 2002;25(11):1919-27.
39. Ziegler D, Hanefeld M, Ruhnau KJ, Meissner HP, Lobisch M, Schutte K, Gries FA. Treatment of symptomatic diabetic peripheral neuropathy with the anti-oxidant alpha-lipoic acid. A 3-week multicentre randomized controlled trial (ALADIN Study). *Diabetologia.* 1995;38(12):1425-33.
40. Reljanovic M, Reichel G, Rett K, Lobisch M, Schuette K, Moller W, Tritschler HJ, Mehnert H. Treatment of diabetic polyneuropathy with the antioxidant thioctic acid (alpha-lipoic acid): a two year multicenter randomized double-blind placebo-controlled trial (ALADIN II). *Alpha Lipoic Acid in Diabetic Neuropathy. Free Radic Res.* 1999;31(3):171-9.
41. Ziegler D, Hanefeld M, Ruhnau K, Hasche H, Lobisch M, Schutte K, Kerum G, Malessa R. Treatment of symptomatic diabetic polyneuropathy with the antioxidant alpha-lipoic acid: a 7-month multicenter randomized controlled trial (ALADIN III Study). *ALADIN III Study Group. Alpha-Lipoic Acid in Diabetic Neuropathy. Diabetes Care.* 1999;22(8):1296-301.
42. Ziegler D, Schatz H, Conrad F, Gries FA, Ulrich H, Reichel G. Effects of treatment with the antioxidant alpha-lipoic acid on cardiac autonomic neuropathy in NIDDM patients. A 4-month randomized controlled multicenter trial (DEKAN Study). *Deutsche Kardiale Autonome Neuropathie. Diabetes Care.* 1997;20(3):369-73.
43. Ametov AS, Barinov A, Dyck PJ, Hermann R, Kozlova N, Litchy WJ, Low PA, Nehrlich D, Novosadova M, O'Brien PC, et al. The sensory symptoms of diabetic polyneuropathy are improved with {alpha}-Lipoic Acid: The SYDNEY Trial. *Diabetes Care.* 2003;26(3):770-6.
44. Ziegler D, Nowak H, Kempler P, Vargha P, Low PA. Treatment of symptomatic diabetic polyneuropathy with the antioxidant alpha-lipoic acid: a meta-analysis. *Diabet Med.* 2004;21(2):114-21.
45. Touyz RM. Reactive oxygen species and angiotensin II signaling in vascular cells - implications in cardiovascular disease. *Braz J Med Biol Res.* 2004;37(8):1263-73.
46. Touyz RM, Schiffrin EL. Ang II-stimulated superoxide production is mediated via phospholipase D in human vascular smooth muscle cells. *Hypertension.* 1999;34(4 Pt 2):976-82.
47. Berry C, Anderson N, Kirk AJ, Dominiczak AF, McMurray JJ. Renin angiotensin system inhibition is associated with reduced free radical concentrations in arteries of patients with coronary heart disease. *Heart.* 2001;86(2):217-20.