

ALTERACIONES DEL SISTEMA ANTIOXIDANTE EN RETINOPATÍA DIABÉTICA

**Hernández-Rodríguez, Patricia., M.Sc¹, Rodríguez-Rodríguez, Duván., MD²,
Nova-Ordúz, Olga., MD³**

**¹ Docente investigador. Facultad de Optometría. Departamento de
Ciencias Básicas. Universidad de la Salle. Bogotá Colombia.
e-mail: mhernandez@jupiter.lasalle.edu.co.**

**Docente Cátedra Posgrado Bioquímica Clínica. Facultad de
Ciencias Pontificia Universidad Javeriana.
e-mail: patricia@javeriana.edu.co**

**² Médico Cirujano. Universidad del Rosario. Especialista en gerencia de la
salud pública. Ecoopsos ARS. e-mail: djrodriguez54@hotmail.com**

**³ Médico Cirujano. Universidad del Rosario. Centro Policlínico del Olaya.
e-mail: opno04@yahoo.com**

**Correspondencia Autor: Patricia Hernández Rodríguez. Carrera 2 # 10-70 Departamento de
Ciencias Básicas. Universidad de la Salle Bogotá. Colombia Tel Ofic.: 3-535360 ext 2500. Cel:
315-3848405**

RESUMEN

Los diabéticos con un control deficiente de la glicemia tienen una actividad antioxidante total disminuida, lo que provoca defectos en la protección contra los radicales libres de oxígeno, específicamente se altera la susceptibilidad al daño oxidativo. La alteración de la glicemia implica aumento del sorbitol y del glutation lo que genera daño en cristalino y retina, llevando a una pérdida parcial o total de la visión. Diversos estudios clínicos favorecen la hipótesis de que la baja actividad de las enzimas del sistema antioxidante, está asociada con daños microvasculares en la retina, sin embargo, algunos autores han reportado estudios donde no hay una asociación estadísticamente significativa, por consiguiente, es importante plantear investigaciones que permitan medir el estado antioxidante total ya que este es un reflejo de los niveles de radicales libres y del daño ocular. Con este artículo se pretende realizar una revisión sobre el papel y la posible implicación, a nivel preventivo, que puede tener la asociación entre alteraciones del sistema antioxidante y la retinopatía diabética; pues se podría determinar, de forma indirecta, el inicio y la severidad del daño en retina, lo cual permitiría seguir una conducta terapéutica temprana generando prevención primaria.

Palabras Claves: *Retinopatía Diabética, antioxidantes, estrés oxidativo, alteraciones en retina.*

ABSTRACT

The diabetic with a deficient blood glucose control have an antioxidant activity total diminished, what causes defects in the protection against the free radicals of oxygen, specifically is altered the susceptibility to oxidative damage. The alteration of the glucose implies increase production of sorbitol and of glutation and may cause to damage in crystalline and retina, involving to a partial or total loss of the vision. Clinical trials diverse favor the hypothesis that the activity of the enzymes of the antioxidant system, are associated with microvascular damages in it retina, nevertheless, some authors have reported studies where there is not a statistically significant association, consequently, is important to present studies that permit to measure the antioxidant state total since this is a reflection of the free levels of radicals and of the ocular damage. With this article intends to carry out a revision on the role and the possible implication, to preventive level, that can have the association among alterations of the antioxidant system and the diabetic retinopathy; therefore would be able to determine, of indirect form, the start and the severity of the damage in retina, which would permit to continue an early therapeutic conduct generating primary prevention.

Key words: *Diabetic Retinopathy, antioxidant, stress oxidative, alterations in retina.*

INTRODUCCIÓN

La Diabetes puede ser tipo 1 (insulinodependiente) y tipo 2 (no Insulinodependiente), los dos tipos sufren un espectro completo de complicaciones, sin embargo, la incidencia varía en cada tipo. En la diabetes tipo 1 la insuficiencia renal secundaria a nefropatía es la causa principal de muerte, mientras que el daño macrovascular es la causa habitual de mortalidad en la tipo 2 (1, 2).

Aunque la diabetes tipo 2 es 10 veces más frecuente que la diabetes tipo 1, esta última tiene una predisposición genética más fuerte; el defecto o defectos moleculares específicos que causan la diabetes tipo 2 aún se desconocen en gran parte. A esto se asocian factores ambientales que contribuyen a la severidad de las lesiones diabéticas conllevando a daño vascular (3, 1).

Esta entidad patológica tiene una prevalencia del 7% en la población colombiana mayor de 30 años, se espera que los índices poblacionales de diabetes tipo 2 se incrementen en los próximos años debido a la creciente urbanización y por el envejecimiento de la población. Estudios realizados para establecer la incidencia de diabetes tipo 1 en Bogotá han determinado que por cada 100.000 niños menores de 15 años se reportan 3 a 4 casos nuevos (Proyecto DIAMOND) (4).

La diabetes se caracteriza por una disfunción en la homeostasis de la glucosa, con hiperglicemia crónica, es una enfermedad progresiva y con diversas secuelas entre las que se encuentra la retinopatía que se produce en dos etapas: no proliferativa y proliferativa. La primera se observa con frecuencia tanto en diabéticos tipo 1 como tipo 2, siendo los microaneurismas los primeros signos clínicos de retinopatía diabética (retinopatía de fondo), se ha considerado que las

bolsas salientes de la pared vascular se relacionan con la pérdida de los pericitos, lo que permite que aumente la permeabilidad vascular y la grasa que escapa de los capilares se presenta como diminutas manchas amarillas con bordes distintivos (exudados duros) que forman un anillo alrededor del área de escape. Estos exudados en el área de la mácula se asocian con edema macular, que causa el deterioro visual en la diabetes tipo 2. En este momento la persona puede ignorar la presencia de la patología y probablemente aún no nota deterioro de la visión. Al progresar la retinopatía se observa isquemia que empeora la lesión de fondo y está asociada con la etapa proliferativa, donde además se presentan áreas amarillas nebulosas (exudados blandos) y neovascularización (1, 3, 5).

Se han planteado diversas hipótesis sobre la actividad de las enzimas del sistema antioxidante y la asociación con daños en la retina, algunos autores han reportado asociación estadísticamente significativa indicando una fuerte disminución de estos marcadores en pacientes diabéticos con retinopatía frente a diabéticos sin alteraciones en retina y con glicemia controlada, otros investigadores por el contrario no han encontrado significancia estadística a pesar de observar una baja tendencia en la concentración de enzimas antioxidante (6, 7, 8, 9).

ANTECEDENTES

El daño oxidativo en órganos y tejidos juega un rol importante en patologías como la diabetes, específicamente en retinopatía diabética y en el avance del estado proliferativo de la misma. Se ha postulado que el incremento, en suero, de marcadores de estrés oxidativo esta directamente asociado con isquemia y neovascularización a nivel de retina. En ratones se ha encontrado que el hiperóxido linoléico, un producto final reactivo de los lípidos, genera daño oxidativo cuando se inyecta en el vítreo, inicia el desarrollo de neovascularización en la superficie de la retina dentro de la cavidad vítrea (neovascularización extraretinal). Estudios en humanos sugieren que la terapia antioxidante, por ejemplo con

vitamina E, normaliza o minimiza la retinopatía diabética. Por otra parte, se ha encontrado que la falta de un control metabólico glicémico incrementa el daño ocular (10, 5).

Existen varios antecedentes de importancia que se han determinado en los diferentes estudios en cuanto a la instauración y progresión de la retinopatía diabética, entre ellos se encuentran:

Antecedente familiar: Se ha encontrado una mayor predisposición en el desarrollo de la retinopatía diabética en aquellas personas con padre o madre diabética.

Factores sistémicos: El control de la glicemia y patologías como enfermedad renal, hipertensión arterial, embarazo o dislipidemia asociados a la diabetes son factores que aumentan la incidencia de retinopatía diabética (11).

Duración de la diabetes: Es el mejor predictor para la presentación de retinopatía diabética; pacientes quienes han usado insulina por 5 años o menos rara vez presenta algún signo de retinopatía diabética. Aquellos con insulino terapia durante 5 y 10 años muestran signos de retinopatía en un 27%, mientras un 71-90% de los pacientes tienen estos signos cuando han usado insulina por más de 10 años y más del 95% de los pacientes cuando la han utilizado por más de 20 años (5).

Edad del paciente: Es un importante predictor si la diabetes se instauró antes de la pubertad, lo que significaría que la persona convivirá más tiempo con la enfermedad, aumentando el riesgo de presentar retinopatía diabética.

HIPERGLICEMIA Y RETINOPATIA

La hiperglicemia de la diabetes tipo 2 es consecuencia de uno o varios defectos genéticos no definidos (las cifras de concordancia en gemelos idénticos se acercan a 100%), siendo su expresión modificada por factores ambientales. En fases posteriores la misma ejerce un efecto deletéreo sobre la producción de la insulina, por un fenómeno denominado glucotoxicidad. Así, al final de la enfermedad el déficit insulínico relativo se vuelve absoluto y muchos de los individuos deben recibir insulina exógena y tienen un comportamiento similar al de los diabéticos tipo 1 (3,4).

En la actualidad se considera que las complicaciones microvasculares de los pacientes con Diabetes tipo 1 y 2 se relacionan con la concentración de glicemia. Aunque el control glucémico influye de manera clara sobre la producción de complicaciones microvasculares, es posible que también los factores genéticos influyan. Evidencias a partir de diversos estudios sugieren que cerca del 20 al 40% de diabéticos tienen susceptibilidad al desarrollo de complicaciones microvasculares intensas, estas complicaciones se han asociado con altas concentraciones de glucosa. En la diabetes las membranas basales de los vasos sanguíneos tienden a engrosar y contienen grandes cantidades de colágeno y menores de proteoglicano, del cual el heparán sulfato es el mayor componente (3, 10, 12, 13, 14)

La manifestación ocular más frecuente es la retinopatía, de hecho en Estados Unidos es la causa principal de ceguera en adultos. La retinopatía diabética se produce en dos etapas; inicialmente como retinopatía no proliferativa, se caracteriza porque se presentan microaneurismas en los capilares retinianos en forma de diminutos puntos rojos, siendo esto el primer signo clínico detectable en retinopatía de fondo. Se observan bolsas salientes a nivel de los capilares lo que se ha relacionado con la pérdida de los pericitos que dan soporte y rodean las

paredes de los capilares. Esto hace que la permeabilidad aumente y la grasa se escape presentándose exudados duros (diminutas manchas amarillas con borde prominentes) que forman un anillo alrededor del área de escape. La aparición de exudados duros en el área de la mácula se relaciona con edema macular, lo que hace que estos pacientes tengan un deterioro visual. Al progresar la retinopatía se presentan signos de isquemia que se asocian directamente con la retinopatía proliferativa (5, 12, 13, 14).

En la retinopatía proliferativa se presenta isquemia retiniana, causada por la oclusión de capilares de arteriolas terminales, se observan exudados blandos (áreas amarillas nebulosas) debido a la acumulación de desechos axonoplásmaticos en las áreas de infarto. También es posible que se produzcan hemorragias y las venas de la retina pueden desarrollar dilatación segmental (10, 12, 13)

La retinopatía progresa a una etapa que se caracteriza por la proliferación de nuevos vasos. La neovascularización es la causa más importante de ceguera. Se ha postulado una hipótesis de que la isquemia retiniana estimula la liberación de factores promotores de crecimiento que participan la formación de nuevos vasos. Estos capilares anormales junto con la tracción de redes fibrovasculares nuevas y el humor vítreo conduzcan a hemorragia vítrea o desprendimiento de retina que conllevan a la ceguera (5, 10, 12).

RADICALES LIBRES

Los radicales libres de oxígeno son moléculas inestables y muy reactivas capaces de modificar proteínas, lípidos y ácidos nucleicos; estas moléculas pueden aumentar su producción debido a múltiples factores como son la falla en el control del sistema o una sobreexpresión de los mismos ocasionando daño tisular que

puede llevar a enfermedades asociadas con daño endotelial como son la aterosclerosis, retinopatía diabética, artritis, fibrosis entre otras (15).

Los radicales libres son particularmente dañinos para las proteínas que contengan un grupo sulfidrilo (SH). Este es el caso de numerosas enzimas celulares y proteínas de transporte, que pueden por esta vía, ser oxidadas e inactivadas. De este ataque de los radicales libres sobre las proteínas, resultan graves alteraciones del metabolismo celular (15,16).

Los ácidos nucleicos son particularmente sensibles a la acción de los radicales libres. El sitio de acción es el seno de la molécula del ADN (entre las bases púricas y pirídicas) que conlleva a la ruptura de estas y las mutaciones correspondientes. Esta desnaturalización del ADN puede tener graves consecuencias sobre la transmisión a la replicación del mensaje genético, así como sobre la síntesis de proteínas (15,16).

El mecanismo del daño ocular se puede explicar debido a que la Glicosilación No Enzimática (GNE) se encuentra acelerada en la Diabetes Mellitus. La glicación implica una reacción en la cual los azúcares (glucosa en general, pero no exclusivamente) reaccionan no-enzimáticamente con las proteínas (y en menor grado lípidos y DNA) para formar los productos de glicación precoz, también llamados de Amadori o fructosamina (16, 17, 18).

SISTEMAS DE DEFENSA FRENTE A LOS RADICALES LIBRES

El organismo dispone de sistemas de defensa enzimáticos específicos, los cuales se encuentran en el sitio de producción de los radicales libres, disminuyendo su concentración (Holliwel B. 1988). En este grupo de enzimas se encuentra la superóxido dismutasa (SOD); una metalo-enzima frecuente en organismos aeróbicos, aerotolerantes y algunos anaerobios obligados. Son esenciales contra

la toxicidad producida por los metabolitos parcialmente reducidos, generados durante la reducción biológica del oxígeno molecular (19). La SOD es una enzima citoplasmática y mitocondrial que acelera considerablemente la disminución del ión Superóxido (O_2^-) en peróxido de hidrógeno (H_2O_2): Ella podrá impedir así la formación de dos especies H_2O_2 y O_2^- por consiguiente de generar OH^\bullet (8).

Se conocen tres formas de SOD según el metal que utiliza como cofactor.. Estas enzimas catalizan la conversión del radical Superóxido (O_2^-) en peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el oxígeno molecular (O_2). Existen tres tipos de SOD según su localización: Mn-SOD mitocondrial, CuZn-SOD citosólica y CuZn-SOD extracelular. Su función fundamental consiste en eliminar el radical Superóxido antes que este reaccione con moléculas biológicas susceptibles u origine otros agentes tóxicos. El peróxido de hidrógeno generado por la acción de la enzima, es eliminado por la catalasa y/o la Glutatión peroxidasa (19).

Otra enzima implicada es la Glutatión peroxidasa, enzima citosólica e intramitocondrial que degrada la mayor parte de peróxido de hidrógeno y lo transforma, en presencia del Glutatión reducido, en agua y Glutatión oxidado. Es una de las enzimas que participan en las transformaciones de ERO, catalizando la reducción del peróxido o lipoperóxido, para lo cual utiliza como agente reductor al glutatión reducido (GSH). La GPx, como parte del mecanismo de defensa antioxidante, evita la oxidación de los lipoperóxidos (L-OOH), reduciéndolos en presencia de GSH. Se conoce que los L-OOH son tóxicos y que dan lugar a ERO como los radicales peróxido (L-OO $^\bullet$). Existen al menos tres formas de GPx selenio dependiente: una forma intracelular (GPx-c) otra con actividad específica para fosfolipoperóxidos (GPx-PH) y una extracelular o plasmática (GPx-p). La GPx-c tiene mayor afinidad por el H_2O_2 , mientras que la GPx-p tiene afinidad tanto para H_2O_2 como para L-OOH. La GPx-c como la GPx-P no son capaces de utilizar los fosfolipoperóxidos (PHL-OOH) que son los sustratos principales para GPx-PH. La

GPx actúa en presencia de concentraciones bajas de H_2O_2 . Algunas citoquinas como el factor de necrosis tumoral (FNT), el IFN y la IL-1 son capaces de inhibir la actividad de la GPx. La alteración de la actividad de la GPx provoca un aumento de los niveles de H_2O_2 y de lipoperóxidos, lo que puede ser fatal para la célula y aun más para el organismo. En la Diabetes Mellitus tipo1 la peroxidación lipídica acelera el envejecimiento y las lesiones microvasculares, lo que esta en relación con la GPx y otras enzimas antioxidantes (20,21).

Otra enzima localizada en el interior de los peroxisomas, cuyo rol es el de catalizar la disminución de peróxido de hidrógeno en agua y en oxígeno molecular. La actividad de esta enzima está limitada por su localización exclusiva en los peroxisomas.

Una línea secundaria de defensa esta constituida por un conjunto de compuestos denominados “captadores de radiales libres”; este sistema de protección complementaria es a la vez citosólico (Glutación, ácido ascórbico) y membranal (α -tocoferol, vitamina A). La característica común de estos compuestos es ser fácilmente oxidables. El Glutación juega un papel antioxidante y capta los radicales libres después de realizar una dismutación. El α -tocoferol o vitamina E capta los radicales de tipo hidroperóxido ROO^* en el mismo lugar de su formación (localización membranal de α -tocoferol) y se opone así eficazmente a la lipidoperoxidación de las membranas celulares (9,10).

Cuando los sistemas antirradicales fisiológicos (enzimas específicas captadores e radicales libres) son rebasados, bien sea en razón de una disminución de la actividad enzimática, envejecimiento o en razón de una exagerada producción de radicales (situaciones patológicas diversas, exposición a las irradiaciones ionizantes o a una radiación ultravioleta), la neutralización de los radicales libres suele afectar otros sistemas celulares tales como las membranas, los ácidos nucleicos y las proteínas, desencadenándose el poder patógeno de los radicales

libres. De la oxidación de los radicales de los lípidos de membrana, de proteínas y de los ácidos nucleicos resulta una alteración profunda de las membranas y del metabolismo celular con la muerte de las células (22).

ALTERACIONES OCULARES

La misión del cristalino es la de enfocar correctamente la imagen en la retina, su transparencia es necesaria para cumplir esta función. Esa transparencia se ha logrado a través de la evolución, gracias a la selección de proteínas muy solubles (las α , β y γ cristalinas), que facilitan el paso de la luz y dotan al cristalino de un índice de refracción suficiente para enfocar las imágenes en la mácula retiniana, no se descarta que las cristalinas desempeñen un papel enzimático además del fisicoquímico (5,12,13,14,23)

La alta solubilidad del cristalino se debe a la presencia de grupos sulfhidrilo libres en su superficie. Las cristalinas se unen molécula con molécula debido a la formación de enlaces disulfuro, los cuales son estables y por tratarse de enlaces covalentes para su eliminación requieren de la acción enzimática, en este caso esta acción la ejerce la cristalina reductasa, que rompe los enlaces disulfuro permitiendo que las cristalinas retomen su forma nativa. El cofactor de la cristalina reductasa es el glutatión, que se recupera con el NADPH generado en el ciclo de las pentosas fosfato. En los pacientes diabéticos, este sistema de reparación de las cristalinas esta alterado debido a la inhibición de la vía de las pentosas fosfato provocada por la hiperglucemia (5,23)

Por otra parte el cristalino tiene otra enzima la aldosa reductasa, cuya función es convertir la aldosa en sorbitol. En los diabéticos la hiperglucemia es larga y aguda, lo que ocasiona un aumento significativo en la síntesis de sorbitol, para compensar este aumento de sorbitol en el cristalino, se produce entrada de agua, con la dilución posterior de las enzimas y los cofactores necesarios para la

reparación de las cristalinas. Este hecho en sí puede ser el causante de las cataratas agudas, sin contar con los efectos fisicoquímicos del agua que puede causar rotura de la cápsula del cristalino. La no reversión de las cristalinas se debe a la glucosilación de las cristalinas, cuyos compuestos de Amadori se unen formando puentes glucosídicos AGE no degradables que favorecen el oscurecimiento de algunas cataratas ya que estos compuestos AGE proporcionan un color marrón a los tejidos (5,12,13,14).

En el cristalino no hay fibras para dolor, vasos sanguíneos, ni nervios. La formación de la catarata en los pacientes diabéticos es inducida por el sorbitol y la fructosa y por las anomalías metabólicas que suceden en la diabetes. Se presenta un acumulo en el porcentaje de glutatión a nivel de la corteza del cristalino (10,23).

PAPEL DE LAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES EN LA PREVENCIÓN PRIMARIA DE RETINOPATIA DIABETICA

Las especies reactivas del oxígeno o radicales libres han sido implicadas durante los últimos años, en diversos procesos oftalmológicos con relación a la diabetes, principalmente cataratas, degeneración macular asociada a la edad y retinopatía diabética, otorgando un gran aporte en el avance del estado proliferativo de esta última entidad. La presencia de dichos radicales es bien conocida en el curso de procesos inflamatorios y aquellos con componente de isquemia y neovascularización a nivel de retina (10,23).

Diversos grupos han coincidido en destacar la importancia de las anomalías microvasculares y de la inflamación en el comienzo de la retinopatía diabética, pero aún no ha sido posible la identificación precisa de los factores que desencadenan la lesión celular. Aunque la retina y coroides son tejidos con una

elevada actividad metabólica y con una importante demanda de oxígeno, no hay muchos estudios que analicen el posible papel que pudieran desempeñar las especies reactivas del oxígeno en la patología de la retinopatía diabética (24)

Diversos estudios postulan que debido a la gran cantidad de ácidos grasos poliinsaturados que contiene la retina y la elevada disponibilidad de oxígeno, el estímulo hipoxia-isquemia-reperfusión, pueden iniciar la cadena de formación de radicales libres, proceso que pudiera verse favorecido por el posible desequilibrio entre los factores pro-oxidantes y los sistemas de defensa antioxidante (10, 23).

Diversos estudios muestran el papel protector de los antioxidantes naturales frente a la acción de los radicales libres, disminuyendo los niveles enzimáticos de los metabolitos producto del estrés oxidativo celular; Kunisaki M, 1998 realizó una investigación para probar el efecto del alfa D-tocopherol (50 micrograms/MI) observando que este antioxidante regulaba la producción Diacil glicerol (DAG) totales y [3H]-palmitate moléculas que se incrementan en respuesta a la hiperglicemia. Estos hallazgos sugirieron que el alfa de D-tocopherol' normaliza la actividad de estos dos metabolitos, mejorando de esta manera el flujo sanguíneo de la retina. Otros estudios sugieren que el incremento del stress oxidativo se involucra en la activación de la caspase-3 y del proceso de apoptosis de las células endoteliales y pericitos. Antioxidantes naturales podrían inhibir el desarrollo de la retinopatía diabética por inhibición de la apoptosis microvascular (25, 26).

BIBLIOGRAFÍA

1. Vlassara H, Bucala R. Recent progress in advanced glycation and diabetic vascular disease: role of advanced glycation end product receptors. *Diabetes* 1996; 45 (Suppl 3): S65-6.

2. Cefalu WT, Wang ZQ, Bell-Farrow A, Kiger FD, Izlar C. Glycohemoglobin measured by automated affinity HPLC correlates with both short term and long term antecedent glycemia. *Clin. Chem.* 1994; 40:1317-1321
3. Bierman E.L. Atherogenesis in diabetes. *Arterioscler. Thromb.* 1995; 12: 647-656.
4. Aschner P. Diabetes Mellitas. En: *Medicina Interna*. Colombia: Chalem F; 1998. p. 1735-1753
5. Hartnett E, Stratton R, Browne R, et al. Serum markers of oxidative stress and severity of diabetic retinopathy. *Diabetes Care.* 2000; 23:234-240.
6. Pennathur S, Heinecke JW. Mechanisms of oxidative stress in diabetes: implications for the pathogenesis of vascular disease and antioxidant therapy. *Front Biosci*; 2004; 1(9):565-574
7. Gurler B, Vural H, Yilmaz N, Oguz H, Satici A, Aksoy N. The role of oxidative stress in diabetic retinopathy. *Eye.* 2000; 14 Pt 5:730-5
8. Fridovich, Irwin. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu.Rev. Biochem.* 1995; 64:97-112.
9. Harris E. Regulation of antioxidant enzymes. *Faseb J.* 1992; 6: 2675-2682.
10. Davis MD. Diabetic retinopathy. Aclinical overview. *Diabetes care.* 1999; 12: 1844-1849.
11. Mamposo M, et al, Especies reactivas de oxígeno en el paciente diabético no insulino dependiente con retinopatía diabética. *Rev cubana Endocrinol.* 1999; 10(3): 182-90.
12. Dineen S, Gerich J, Rizza R. Carbohydrate metabolism in non insulin-dependent diabetes mellitus. *J. med.* 1998; 327: 707-711.
13. Gerich JE, Dineen S. Hypoglicemia unawareness. *Endocr Rev.* 1999; 12: 356-359.

14. Kolaczynski J W, Caro, JF. Insulin like growth factor – I therapy in diabetes: physiologic basis, clinical benefits, and risks. *Ann. Intern Med.* 1998; 120: 47-50.
15. Monte M, Sacerdote de Lustig E. Free radicals of oxygen and superoxide dismutase. Biological and medical aspects. *Medicina (B Aires).* 1994;54(1):61-8.
16. Maillard LC. Condensation des acides aminés sur les sucres; formation de melanoidines par voie méthodique. *CR Acad Sci . Paris.* 1992; 154: 66-68.
17. Njoroge FG, Monnier VM. The chemistry of the Maillard reaction under physiological conditions: a review. *Prog Clin Biol Res.* 1989; 304: 85-91.
18. Monnier V. Toward a Maillard reaction theory of aging. In: Baynes JW, Monnier VM, ed. *Proceedings of the NIH Conference on the Maillard Reaction in Aging. Diabetes and Nutrition.* New York: Liss, 1989; 1-22.
19. García B, García O, Rodes L, García J. Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: I Superóxido dismutasas. *Rev Cubana Invest Biomed.* Vol. 14. Nº 1. 1995.
20. Belda Sanchís JI, Puertas J, Bosch Morell F, Romero Gomez B, Marín N, Díaz-Llopis M, Romero Gomez FJ. Determinación de los niveles de Glutación, Enzimas del sistema glutación y productos de la peroxidación lipídica en el cristalino cataratosa y en el cristalino sano. *Archivos de la sociedad Española de oftalmología.* 1999.
21. Cisneros E, Pupo J, Cespedes E. Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: III. Glutación Peroxidasa. *Rev Cubana Invest Biomed.* 1997: 16 (1) 1. 10-15. 1997.
22. Triana Mantilla ME. La hiperglicemia y sus efectos tóxicos. Un concepto patogénico para la micro y macroangiopatía. *Rev. Cubana Angiol y cir vasc.* 2001; 2(2): 131-141.

23. Taylor S. I. Diabetes mellitus. En: Scriver C:R, Beaudet A.L., Sly WS., Valle D (eds). The molecular and metabolic bases of inherited Diseases McGraw Hill N.Y. 7 ed. 1995. p. 843-893
24. Verdejo C, Marco P, Portolés M, et al. Formación de radicales libres y actividad antioxidante en retinopatía diabética proliferativa (RDP). Archivos de la sociedad Española de oftalmología 1999 N°5.
25. Kunisaki M, Bursell SE, Umeda F, Nawata H, King GL. Prevention of diabetes-induced abnormal retinal blood flow by treatment with d-alpha-tocopherol. Biofactors. 1998; 7(1-2):55-67.
26. Kowluru RA, Koppolu P. Diabetes-induced activation of caspase-3 in retina: effect of antioxidant therapy. Free Radic Res. 2002 Sep; 36(9):993-9.

