



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

METABOLISMO DE AGES Y SUS REPERCUSIONES
CLÍNICAS.

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

C I R U J A N A D E N T I S T A

P R E S E N T A:

BLANCA ESTELA LÓPEZ JIMÉNEZ

TUTORA: Esp. LUZ DEL CARMEN GONZÁLEZ GARCÍA

ASESOR: Esp. RICARDO MICHIGAN ITO MEDINA

MÉXICO, D.F.

2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**En memoria de mis dos ángeles en el cielo
Mi madre Margarita Jiménez Ángel
Mi bebé Elías Israel López Jiménez**

Primero y antes que nada a **Dios** por ser el principio y fin de todo cuanto existe, gracias por demostrarme que no pones pruebas que no podamos soportar y superar, gracias sostenerme en la palma de tu mano e ir conmigo en cada paso, gracias por ser el inspirador de mi vocación y por fortalecer cada día mi corazón.

A mi madre **Margarita Jiménez Ángel** que fue el ser más maravillosa de todo el mundo, por darme la seguridad para enfrentar la vida, por su amor y comprensión que desde niña me brindo, por su apoyo incondicional en todos y cada uno de mis proyectos, por acompañarme en tantas noches de desvelo y a pesar de tu ausencia en vida , su alma y su espíritu siguió presente y se convirtió en mi ángel guía que desde el cielo me siguió motivando para no dejar mis sueños y cumplir esta meta, que juntas nos pusimos, este logro es tanto tuyo como mío mamita querida y por ello gracias.

A mis hermanos, Elizabeth, Juan, Rubén y Claudia que confiaron en mí y siguieron apoyando mis estudios, moral y económicamente, gracias por no dejarme desistir y alentarme a continuar, gracias por los esfuerzos realizados para que yo lograra terminar mi carrera profesional. Siendo para mí la mejor herencia.

A mis sobrinos Lupita, Abigail, Héctor e Israel por alegrar mis días, por sus ocurrencias y ternura, por brindarme todo su cariño y por siempre sacarme una sonrisa.

A mi tía María de Jesus Jiménez y mi prima María Luisa porque me han acompañado a lo largo de la vida alentándome y alegrándose por cada logro obtenido.

A José por acompañarme a lo largo de esta etapa por darme ánimo y entusiasmo, por enseñarme que vale la pena seguir adelante a pesar de los problemas u obstáculos que la vida te pone en su andar.

A mis amigos de toda la vida y a los que he conocido a lo largo de la carrera, gracias por su lealtad, por que estuvieron en momentos sumamente difíciles, por sus palabras de aliento, por darle alegría a mi corazón y por hacer que todo fuera más ameno.

A todos mis profesores que estuvieron en el proceso dentro del cual fue mi carrera.

A mi asesor Ricardo Michigan Ito Medina y sinodales por tomarse el tiempo de estudiar mi tesina y estar presentes en mi examen profesional.

Un especial agradecimiento a mi tutora Luz del Carmen González García por su persistencia, guía y su valiosa ayuda en la consecución de este trabajo.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por darme la oportunidad de formarme en ella y hacer posible este sueño.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	7
1. GLUCOSILACIÓN	8
2. PRODUCTOS DE GLICACIÓN AVANZADA (EN INGLÉS AGE; ADVANCED GLYCATION ENDPRODUCTS)	12
2.1. Metabolismo de los AGEs.....	14
2.2. Vías catabólicas de los AGEs.....	15
3. PROPIEDADES QUÍMICAS Y BIOLÓGICAS DE AGES	16
3.1. Formación de AGEs con proteínas.....	17
3.2. Formación de AGEs con lípidos.....	18
3.3. Formación de AGEs con ácido nucleicos.....	19
4. MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS AGES	20
5. RECEPTORES	21
6. INHIBIDORES DE LA FORMACIÓN DE AGES	24
6.1. Aminoguanidina.....	25
6.2. Amadorinas.....	27
7. PRODUCCIÓN EXÓGENA DE AGES	29
7.1 AGEs en los alimentos.....	29
7.2 Tabaquismo como productor exógeno de AGEs.....	34
8. EXCRECIÓN DE AGES	35
9. REPERCUSIONES CLÍNICAS RELACIONADAS DE LA GLICACIÓN AVANZADA DE LAS PROTEÍNAS DE SERES HUMANOS	35
9.1. Colágeno.....	36
9.2. Elastina.....	39
9.3. Cristalino.....	40

9.4. Mielina.....	42
9.4.1 Neuropatía diabética	43
9.5. Albúmina.....	44
9.5.1 Nefropatía diabética.....	46
9.6. Hemoglobina glucosilada.....	48
9.7. Fibrinógeno.....	52
9.8. Lipoproteínas.....	53
9.8.1 Lipoproteínas de baja densidad LDL	53
9.8.2 Lipoproteínas de muy baja densidad VDL.....	55
9.8.3 Lipoproteínas de alta densidad HLD.....	56
10. INTERFERENCIA DE AGES CON OSTEOCITOS.....	58
11. INTERFERENCIA DE AGES CON ÓXIDO NÍTRICO.....	60
12. PREVENCIÓN DE LOS EFECTOS PERJUDICIALES DE LOS AGES.....	61
CONCLUSIONES.....	64
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades crónicas constituyen actualmente la causa fundamental de morbilidad y mortalidad. La Organización Mundial de la Salud estima que el 46% de las enfermedades y 56% de la mortalidad global se deben a las enfermedades crónicas y sus complicaciones.

Los glicoconjugados, se encuentran presentes en todos los organismos realizando actividades biológicas esenciales para el desarrollo, crecimiento, funcionalidad, y supervivencia. Los cambios en la glicosilación son fenómenos comunes en las enfermedades humanas.

Hace más de 100 años Maillard describió la vía no enzimática para la glicación de las proteínas y sugirió que estas proteínas modificadas químicamente podrían desempeñar un papel en la patogénesis de las enfermedades crónicas, particularmente la diabetes.

Los azúcares reductores provocan la alteración de las proteínas mediante la reacción de glucosilación no enzimática también denominada reacción de Maillard o glicación. Esta reacción se produce en varias etapas: las iniciales son reversibles y se completan en tiempos relativamente cortos, mientras que las posteriores transcurren más lentamente y son irreversibles. Se postula que tanto las etapas iniciales como las finales de la glucosilación están implicadas en los procesos de envejecimiento celular y en el desarrollo de las complicaciones clínicas de diversas enfermedades. En este trabajo presentamos una revisión del mecanismo de estas, y de la fisiopatología de los principales efectos relacionados con la glucosilación no enzimática de las proteínas en los seres humanos.

1. GLUCOSILACIÓN

Para poder entender el metabolismo de los AGEs es necesario anteceder el proceso de Glucosilación también conocida como Reacción de Maillard o bien el nombre actual Glicación.

La reacción de glicación fue descubierta por el químico francés L. Maillard en 1912 estudiando la pérdida de lisina (aminoácido esencial), en alimentos conservados cuando éstos son ricos en proteínas y glúcidos.^{3.2}

En 1981, Monnier y Ceram descubrieron que este fenómeno también tiene lugar en el cuerpo humano, donde después de décadas llevan a la síntesis de proteínas irreversiblemente glicosiladas similares a las melanoidinas, denominadas productos de glicosilación avanzada.^{11.19}

Desde el punto de vista químico, la glicación se define como la reacción de grupos aminos primarios de aminoácidos, péptidos y proteínas con el grupo carbonilo de los azúcares reductores.³

La glucosa es el azúcar reductor más abundante en el organismo. Su concentración en la sangre está sometida a un cuidadoso mecanismo de regulación en individuos sanos y, en personas que padecen diabetes, aumenta sustancialmente. Esto lleva a que éste sea el azúcar reductor generalmente considerado en las reacciones de glucosilación no enzimática de interés biológico. Sin embargo, cualquier azúcar que posea un grupo carbonilo libre puede reaccionar con los grupos amino primarios de las proteínas para formar bases de Schiff. La reactividad de los distintos azúcares está dada por la disponibilidad de su grupo carbonilo.^{2.3.5}

Los aminoácidos, unidad estructural de todas las proteínas, son especies químicas que poseen un grupo amino primario, un grupo carboxilo y una cadena lateral característica de cada aminoácido. Al formarse una proteína

se produce la reacción entre el grupo carboxilo del primer aminoácido y el grupo amino del siguiente formándose el denominado enlace peptídico. En consecuencia, una vez formada la cadena polipeptídica, sólo quedará como tal el grupo amino primario del primer aminoácido, constituyendo el denominado grupo amino terminal. Además, algunos aminoácidos poseen en su cadena lateral grupos capaces de reaccionar con los azúcares reductores (el amino de la lisina y el guanidinio de la arginina). En la glucosilación no enzimática de las proteínas, el grupo amino terminal es el más reactivo, seguido por los grupos amino primarios de la cadena lateral de los residuos de lisina y, con mucha menor reactividad, los grupo guanidinio de los residuos de arginina.¹⁹

A lo largo de la glicación se pueden distinguir tres etapas:

En la Figura 1 podemos ver un esquema general y resumido en el que se muestran los que llevan a la generación de AGEs.

La formación de AGEs ocurre a través de una serie de reacciones químicas; en la primera de ellas, el grupo carbonilo de una cetona o aldehído de un azúcar reductor, se une a un aminoácido libre (principalmente lisina y arginina) de una proteína, lípido o DNA, de una manera no-enzimática para formar una base de Schiff. Los aductos tempranos de glicación (Early glycation adducts, EGAs) corresponden a estos productos iniciales (bases de Schiff y productos de Amadori, o fructosaminas). Los mecanismos de reacción que llevan desde EGAs hasta AGEs, no han sido completamente dilucidados, aunque han sido ampliamente estudiados. El inicio de estas transformaciones depende de la concentración de glucosa y tiene lugar dentro de unas pocas horas. Si la concentración de glucosa disminuye, la reacción es aún reversible. Sin embargo, si la reacción sigue su curso, la base de Schiff sufre un reordenamiento químico y forma los llamados productos de Amadori o fructosamina, esto ocurre en un período de días. Los productos de Amadori son más estables que las bases de Schiff, pero

aún en este punto la reacción es parcialmente reversible. Si estas reacciones se continúan desarrollando y la hiperglicemia persiste, se llegará a una acumulación de productos de Amadori, los cuales sufrirán complejos reordenamientos químicos (oxidaciones, reducciones e hidrataciones) y formarán proteínas entrecruzadas.^{3,5,8,20,21}

Posteriormente, se forman los dicarbonilos oxidantes glioxal y 3-deoxiglucosona, que son producto de la desglicosilación de parte del producto de Amadori, y que son potentes agentes alicantes y oxidantes, capaces de catalizar nuevas reacciones de unión de glucosa a proteínas. En esta fase ocurren varias reacciones de glico-oxidación proteica, todas ellas tendientes a formar productos de glicación que, como están unidos a una sola proteína, no forman puente entre dos de ellas (pirralina y N-carboximetil-lisina). Este proceso se desarrolla a lo largo de semanas, e incluso meses, y es irreversible. Sin embargo, a pesar de la lentitud de la formación de estas estructuras, su formación puede ser catalizada por la presencia de estrés oxidativo, la auto-oxidación de la glucosa, la peroxidación lipídica, la presencia de iones metálicos y otros catalizadores, los cuales pueden aumentar sustancialmente la formación post-Amadori de AGEs.^{10,20,21} (Fig.2)

La fase final en la formación de AGEs comienza con la unión de la pirralina y de la N-carboximetil-lisina con una segunda proteína, formando estructuras conocidas como puentes DOLD y GOLD, los cuales alteran irreversiblemente las estructuras terciarias y cuaternarias de las proteínas.¹⁹ Estas estructuras no tienen propiedades fluorescentes, pero hay otros AGEs que sí fluorescen, como las estructuras de “puente glucoespano” y “puente pentosidina”. Todos estos AGEs son muy estables a fuerzas mecánicas y degradación proteolítica, debido a las estructuras entrecruzadas que se forman durante la glicación y se acumulan dentro y fuera de las células e interfieren con la función de las proteínas.^{10,15,20}

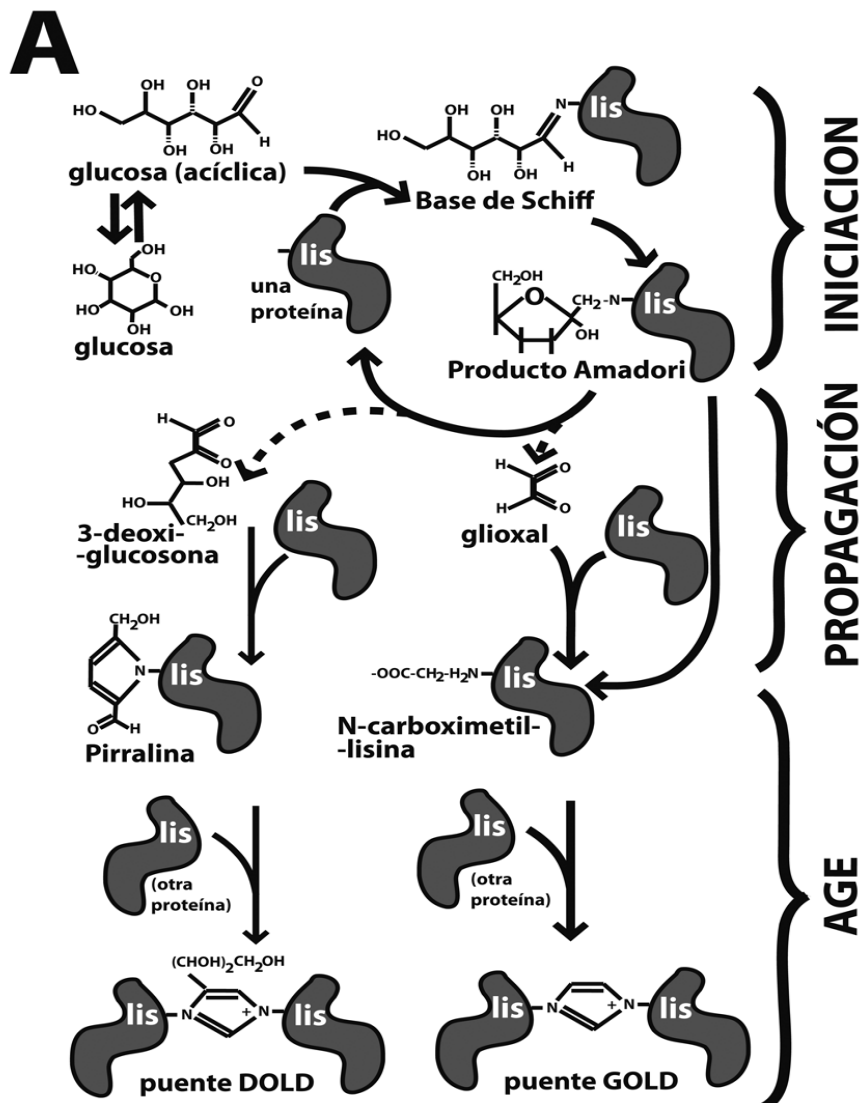


FIGURA 1
Glicación no enzimática de proteínas en el ser humano con sus tres fases iniciación, propagación, y formación de AGEs. ⁸

En condiciones fisiológicas la formación de AGEs depende por un lado, de la concentración de azúcares reductores, y por el otro del tiempo de exposición de la proteína a los azúcares reductores (vida media de la proteína). En proteínas de recambio rápido, el proceso de glicación no supera en general, las etapas iniciales (formación de la base de Schiff y eventualmente la del producto de Amadori) mientras que las de vida media larga llegan a formar los productos de glicación avanzada. ^{20,8}

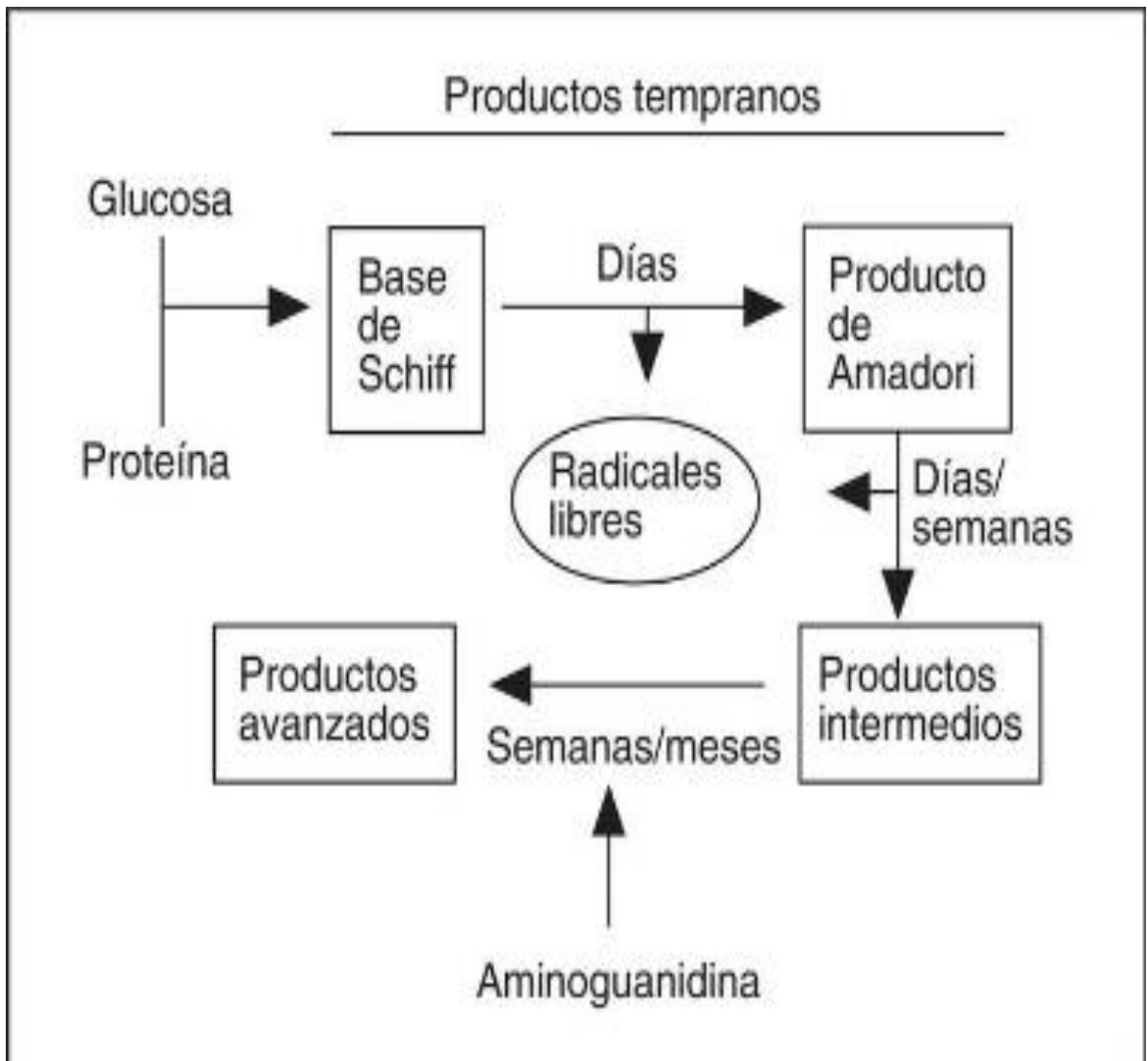


Figura 2 Proceso de glicosilación ²⁶

2. PRODUCTOS FINALES DE GLICACIÓN AVANZADA (EN INGLÉS AGE; ADVANCED GLYCATION ENDPRODUCTS)

Los productos finales de glicosilación avanzada son una clase de heterogénea de moléculas formadas a partir de reacciones aminocarbonilo de naturaleza no enzimática que se producen a lo largo de la vida pero que se incrementa en el estado de hiperglucemia de la diabetes. Considerados importantes

patogénicos de las complicaciones diabéticas, los AGEs son capaces de modificar de manera irreversible las propiedades químicas y funcionales de las diversas estructuras biológicas. A través de la generación de radicales libres, la formación de enlaces cruzados con proteínas o interacciones con receptores celulares, los AGEs promueven, respectivamente, el estrés oxidativo, cambios morfofuncionales y aumento de la expresión de mediadores inflamatorios.⁶

Inicialmente se creía que los AGEs se formaban principalmente a partir de las reacciones no enzimáticas entre la glucosa y proteínas extracelulares. Sin embargo, debido a la mayor reactividad de los precursores dicarbonílicos derivados de la glucosa generados intracelularmente (glioxal, metilglyoxal y 3 deoxiglicosa), en la actualidad se considera que la alta concentración de glucosa dentro de la célula es el evento principal de iniciación en la formación de AGEs tanto intracelulares como extracelulares.

Muchos de ellos son fluorescentes, presentan color pardo amarillento y resultan del entrecruzamiento con otras proteínas o con otras zonas de la misma proteína. A diferencia de la formación de la base de Schiff o del producto de Amadori, que son reversibles, la formación de "AGEs" es un proceso lento y fuertemente desplazado hacia la formación de productos. El aislamiento y la identificación química de estos compuestos ha sido problemática, dada su heterogeneidad e inestabilidad. A través de ensayos *in vitro*, se han podido aislar e identificar unos pocos "AGEs" como los representados en la figura 3 C y D. Posteriormente se ha confirmado la presencia de "AGEs" *in vivo*.

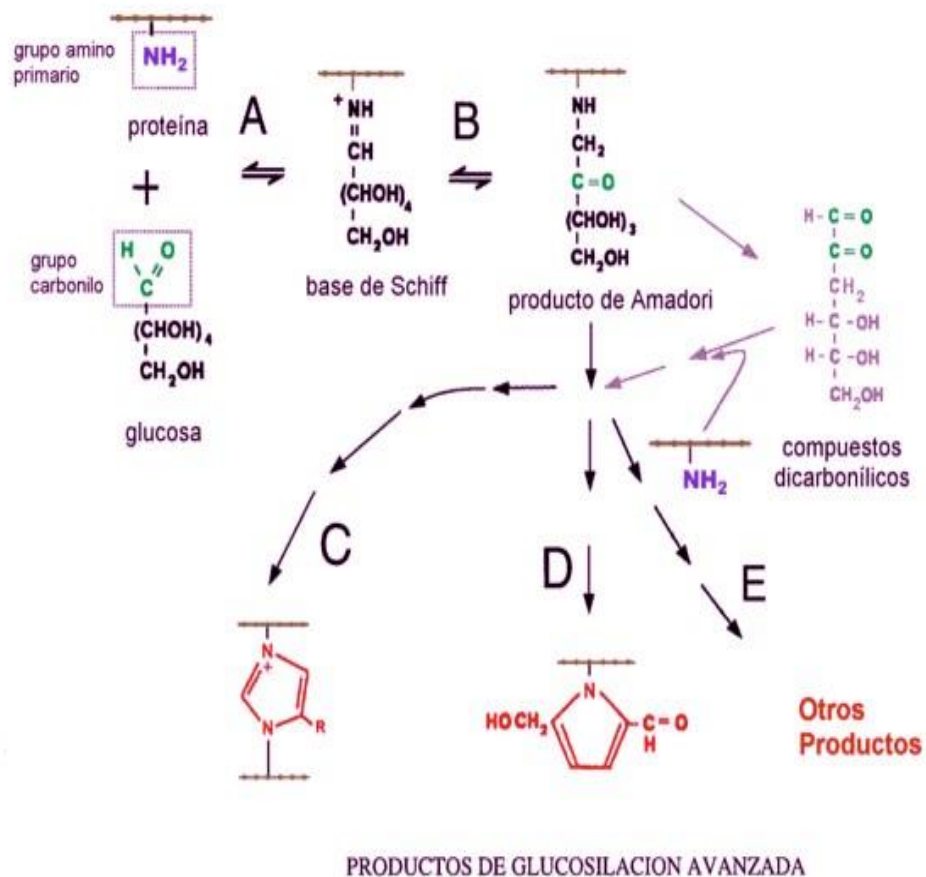


Figura 3 Esquema de reacción del proceso de glucosilación no enzimática de proteínas. (A) Formación de la base de Schiff. (B) Reordenamiento de Amadori. A través de una serie de reacciones complejas los productos de Amadori pueden originar derivados con estructura imidazólica (C) pirrólica (D) y otras diversas (iminas, furanos, piridinas, etc).²⁵

2.1 Metabolismo de los AGES

El pool endógeno de AGEs refleja principalmente el equilibrio cinético de los procesos opuestos: formación endógena y la captación de AGEs exógeno, por una parte, y por otro lado la degradación y la eliminación de AGEs por los sistemas especializados.

La formación de AGEs se produce lentamente, en condiciones fisiológicas y se afecta principalmente a moléculas de larga vida media como el colágeno, que ejercen una función importante en el proceso de envejecimiento. Otras proteínas de larga duración también pueden sufrir glicación avanzada, incluyendo la mielina, tubulina, activador del plasminógeno 1 y el fibrinógeno.¹⁴

Sin embargo, en condiciones de hiperglucemia o estrés oxidativo, la formación de AGEs aumenta considerablemente. Las personas con diabetes tienen concentración de AGEs significativamente más alto que en los sujetos no diabéticos.^{6.2}

2.2 Vías Catabólicas de los AGEs

Las proteínas modificadas por los AGE se unen a receptores específicos en las células endoteliales y en los macrófagos para ser catabolizada.¹⁵

A) Los macrófagos

Cuando la Prot-AGE se une al receptor localizado en el macrófago, estimula la síntesis y secreción del factor de crecimiento unido a la insulina (F1C1), del factor de necrosis tumoral (F α NT) y de la Interlukin-1 (IL-1) en concentraciones tales que inducen la proliferación de las células endoteliales y de las musculares lisas. Estas sustancias pueden además aumentar, en las células endoteliales, la expresión de moléculas de adhesión, la inducción de la síntesis y expresión de células de superficie con actividad procoagulante y de la liberación de IL-1, la que a su vez es capaz a este nivel de células endoteliales de aumentar la permeabilidad vascular y promover la liberación de cantidades elevadas de factores activantes de las plaquetas e indirectamente puede ser la responsable de la proliferación de las células musculares lisas y de los fibroblastos.¹⁴

B) Las células endoteliales

Cuando la Prot-AGE se une al receptor sobre las células endoteliales se estimula la liberación del factor tisular (FT). Este desencadena la vía extrínseca de la coagulación creándose así una situación procoagulante ya que al mismo tiempo se produce una inhibición de la proteína C, conocido anticoagulante fisiológico. Por otra parte hay un incremento en la producción de la Endotelin 1 que induce un aumento en la vasoconstricción del vaso. La unión de la Prot-AGE a cualquiera de los dos receptores trae como consecuencia una trombosis focal cuyo resultado final es la obstrucción progresiva del área luminal. Lo refererido hasta aquí demuestra de forma muy sintetizada cómo la GNE favorece la aparición de una disfunción endotelial al unirse la Prot-AGE a sus receptores específicos, con la consecuente liberación de citoquinas y monoquinas adversas para las células endoteliales. Esta disfunción endotelial provoca en el vaso un incremento en la permeabilidad, una disminución en la antitrombogenicidad, una disminución en la actividad fibrinolítica y el incremento de la adhesión de plaquetas y monocitos, todo lo cual provoca una superficie endotelial permeable y trombogénica. Se ha descrito que la disfunción endotelial precede al debut de las lesiones tanto micro como macrovasculares.^{8,14}

3. PROPIEDADES QUÍMICAS Y BIOLÓGICAS DE LOS AGES

La glicación ocurre preferentemente con proteínas, pero también ocurre con otras biomoléculas que presentan grupos funcionales capaces de reaccionar con el grupo aldehído de la glucosa, tal es el caso de los lípidos y de los ácidos nucleicos. De aquí, la importancia de analizar las propiedades químicas y biológicas de los AGEs.⁷

3.1. Formación de AGEs con proteínas

In vivo el daño por la glucosa pueden surgir directamente de la formación de complejos con proteínas. Durante el tiempo de vida de las proteínas celulares y plasmáticas los productos tempranos de Amadori están en equilibrio con la glucosa durante periodos de horas a días y no evolucionan a estructuras más complejas que requieren de semanas. En contraste, la formación de las estructuras que resultan de la transformación de los productos de Amadori ocurre constante y espontáneamente con proteínas con vida media larga, formándose así los AGEs. Estos incluyen diversas estructuras, algunas de las cuales ya son entrecruzadas (no reactivas) mientras que otras están en el punto intermedio o en la fase tardía y son capaces de formar entrecruzamientos. Así, diversos aductos que se forman durante la exposición a glucosa de una proteína dada pueden evolucionar a diferentes velocidades para formar AGEs entrecruzados dependiendo de las condiciones microambientales como pH, carga local etc.¹⁵

Proteínas con vida corta. La glicación comienza en todos los casos con la unión de la glucosa a los grupos amino de las proteínas para formar una base de Schiff, esta base rápidamente alcanza un equilibrio que refleja el nivel de la glucosa en ese medio. En un periodo de semanas ocurre un arreglo químico que da como resultado un producto de Amadori, compuesto estable formado entre la glucosa y la proteína (químicamente estos compuestos se llaman aductos). Después de que se han alcanzado el equilibrio, los valores de la concentración de los productos de Amadori se hacen constantes y no se incrementan en función de tiempo. La química de la glicación in vivo ha sido ampliamente estudiada utilizando como modelo la hemoglobina humana.

Aunque se piensa que la glicación pudiera no ocurrir en un gran número de enzimas porque la mayoría de ellas tienen vida media relativamente cortas,

las bases de Schiff se forman rápidamente en condiciones fisiológicas y una elevada concentración de estos compuestos in vivo podrían alterar significativamente la función catalítica de algunas enzimas.

Proteínas con vida media larga. Las proteínas estructurales como la colágena, elastina, las proteínas de la vaina de mielina y las proteínas del cristalino tienen un tiempo de recambio mucho más lento que la hemoglobina, por eso acumulan productos de glicación que se forman por transformación de los productos de Amadori. Uno de los primeros productos de glicación formado en condiciones fisiológicas y del que se determinó su estructura fue el 2-furoil-4(5)-(2-furanil)-1-H-imidazol (FFI), que es producto de la condensación de dos productos de Amadori.

En la actualidad se conoce la estructura de varios AGEs. Entre ellos se puede mencionar el 1-alkil-2-formil-3, 4-diglucozil pirrol o N¹-carboximetil-lisina, la pirralina y la pentosidina. La detección de los productos de glicación en diversas macromoléculas biológicas ha sido posible por el uso de técnicas espectroscópicas de fluorescencia, e inmunohistoquímicas.

Tanto in vitro como in vivo se ha demostrado la glicación en una gran variedad de proteínas cuya función es bien conocida, entre estas se puede mencionar además de la hemoglobina, el fibrinógeno, la fibrina, las proteínas de la arteria coronaria, lipoproteínas de baja y alta densidad, albúmina y otras.^{7.13}

3.2. Formación de AGEs con –lípidos

Cuando los lípidos como la fosfatidil-etanol-amina se incuban con glucosa, se forman productos liposolubles con propiedades e inmunorreactividad característica de AGEs.

Esta formación de AGEs está asociada con la oxidación de ácidos grasos. En contraste, los lípidos que carecen de grupo amino libres como la fosfatidil-

colina no reacciona con la glucosa y no son capaces de formar productos de oxidación, lo que señala a la glucosa como mediador primario de la oxidación de ácidos grasos in vivo.

Otros estudios han demostrado que la glucosa es capaz de formar AGEs tanto con la parte lipídica, como con la parte proteica de las lipoproteínas. Estas observaciones han sido corroboradas con las lipoproteínas de baja densidad (LDL), aisladas en pacientes diabéticos, que revelan la formación de AGEs tanto en la fracción lipídica como en la apoproteína B, componente proteínico de esta lipoproteína. Esta formación apoya la idea de que las reacciones de glicación juegan un papel importante en la oxidación de lípidos y en la aterogénesis in vivo.⁷

3.3. Formación de AGEs con ácidos nucleicos

Aunque los grupos amino primarios de los nucleótidos son químicamente menos reactivos hacia los carbohidratos reductores que el grupo amino de la lisina. Se ha observado glicación de las bases nitrogenadas que constituyen a los ácidos nucleicos la cual provoca anomalías en el patrón del DNA. Por otro lado, las propiedades espectroscópicas y fluorescentes de derivados AGEs-DNA son similares a las observadas en las proteínas glicadas. La información que existe sobre los efectos de la glicación en los ácidos nucleicos, específicamente en el DNA, proviene de estudios de transfección atribuida a la glicación del DNA.

Por su larga vida media, se piensa que in vivo el DNA podría acumular de manera progresiva productos de glicación, específicamente AGEs. Tal acumulación podría ser responsable de los cambios dependientes de la edad en el material genético que incluyen aberraciones cromosómicas, ruptura de cadenas del ADN y una declinación en los procesos de reparación, y transcripción. En condiciones de hiperglucemia estos procesos pueden acelerarse y dar como resultado un “envejecimiento celular” temprano. La

glicación de los ácidos nucleicos puede también ser responsable del aumento en la frecuencia de anomalías congénitas en niños de madres diabéticas. La exposición del embrión a altas concentraciones de glucosa podría conducir a una mayor reacción de la glucosa con el DNA, en etapas críticas del desarrollo, que causaría ruptura cromosómica y mutagénesis. Sin embargo, aunque las malformaciones congénitas son 2 a 3 veces más frecuentes en infantes de madres con diabetes, todavía no se propone un mecanismo definitivo que explique este hecho.⁷

4. MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS AGES

Los AGEs pueden dañar las células por tres mecanismos básicos:

- El primero es la modificación de las estructuras, incluyendo aquellas que participan en la transcripción génica.
- El segundo mecanismo es mediante la modificación de la señalización de las moléculas de la matriz extracelular (glicadas) y la célula, causando disfunción.
- El tercer mecanismo se refiere a la modificación de proteínas o lípidos en la sangre.

Las proteínas y los lípidos circulantes modificados por AGEs a continuación, pueden unirse a receptores específicos, causando la producción de citoquinas inflamatorias y factores de crecimiento que a su vez, contribuyen a la patología vascular de la diabetes.

Sabemos de la existencia de un complejo sistema de reconocimiento de los AGEs que tienen un papel importante en la patología asociada con la diabetes.¹⁴

5. RECEPTORES

Entre una variedad de receptores para AGEs que se han descrito en la literatura, la molécula del receptor RAGE es probablemente el mejor caracterizado. Existen numerosas evidencias de que los RAGE desempeñan un papel central en la génesis de estos cambios.

El RAGE pertenece a la familia de las inmunoglobulinas de superficie de célula, con su gen localizado en el cromosoma 6 en el complejo mayor de histocompatibilidad entre genes de clase I y III. Las regiones para el factor nuclear-kB (NF-kB) y la interleucina-6 (IL-6) y se encuentran en el gen promotor de RAGE, controlando la expresión de receptor RAGE y asociado al RAGE las respuestas inflamatorias.¹⁹

Los RAGE parecen funcionar como un interruptor master, convirtiendo las señales proinflamatorias en señales duraderas, a menudo la disfunción celular permanente.^{1,6} Esto ocurre ya que los RAGE inducen una activación sostenida del factor de transcripción proinflamatorio NF-kB y suprimen una serie de funciones autoregulatoras endógenas. Reduciendo el ambiente inflamatorio a través de la disminución en la acumulación de AGEs en los tejidos, se ha demostrado que se reduce o elimina la inflamación exagerada y la disfunción celular y mejora la recuperación de la enfermedad.^{1,6}

Una vez activado el receptor, que entre sus múltiples ligandos reconoce los AGEs es capaz de generar repuestas pro-inflamatorias sobre todo en células endoteliales y monocitos.^{3, 8}

Los receptores de AGE han sido descritos en numerosas células. La lista creciente de los receptores capaces de ligar los AGE incluye: los receptores "scavenger" I y II; el receptor de AGE (RAGE) el Oligosacaril Transferasa; la Fosfoproteína 80KH y la Galectina.^{3,8}

El RAGE es mínimamente expresado en tejidos y vasos en condiciones fisiológicas. Sin embargo, su existencia está aumentada en los macrófagos,

monocitos, células musculares lisas, células endoteliales, astrocitos y osteoblastos en condiciones de exceso de AGE.

Activación del receptor AGE en macrófagos, células endoteliales y mesangiales.^{3,2,6}(Fig.4)

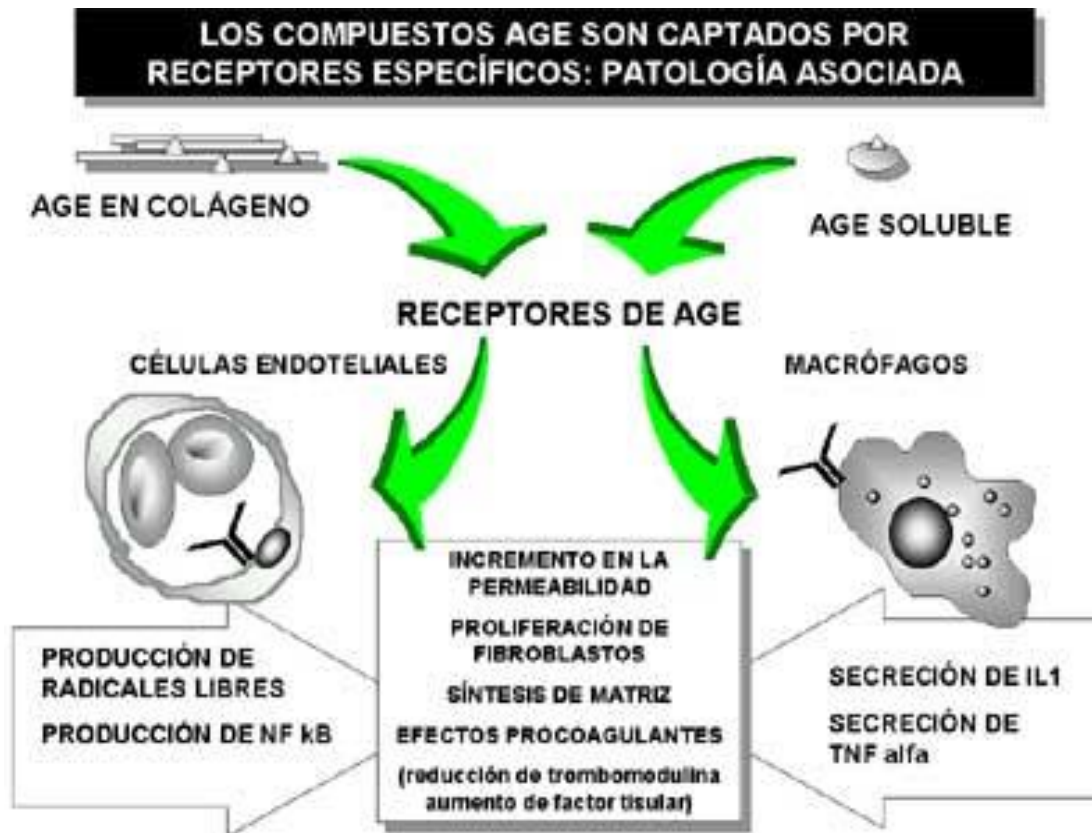


Figura 4 productos de glicación, rol de los receptores.²

Las proteínas AGE que se ligan a estos receptores estimulan la producción por los macrófagos de la Interleuquina1, Factor de Crecimiento I, Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNFalfa) y Factor Estimulante de Colonias de Granulocitos (Figura 4). Dicha estimulación alcanza los niveles que se ha demostrado aumentan la síntesis glomerular del colágeno tipo IV y la proliferación de macrófagos y células de músculo liso arterial. Otra clase de receptores de AGE existen en las células endoteliales que pueden activar mecanismos procoagulantes. Uno de ellos provoca la disminución rápida de

la actividad de la Trombomodulina e impide la activación de la vía de la Proteína C (un agente anticoagulante). El otro cambio procoagulante inducido por la ocupación del receptor de AGE es un aumento en la actividad del Factor Tisular (vía extrínseca), que activa los factores de la Coagulación IX y X y la agregación directa del factor VIIa. En conjunto, estas alteraciones favorecen la formación de trombos en los sitios de acumulación extracelular de dichos AGE y la oclusión de los vasos, hipoxia y necrosis tisular.^{3,19}

Además de RAGE, otra clase de receptores de AGE existen las células endoteliales. Como se muestra en forma de diagrama a la izquierda de la figura 1, este último receptor de AGE parece mediar la transducción de la señal a través de la generación de radicales libres de oxígeno (ROS).¹⁵

Estos radicales luego activan el factor de transcripción NFκB, siendo éste un gran coordinador multifacético de numerosos genes de respuesta-a-lesión. En dichas células endoteliales estos cambios acumulativos son procoagulantes. Uno de ellos, la disminución rápida de la actividad de la trombomodulina impide la activación de la vía de la proteína C (un agente anticoagulante capital). El otro cambio pro-coagulante inducido por la ocupación del receptor de AGE es un aumento en la actividad del factor tisular (vía extrínseca), que activa los factores de la coagulación IX y X y la agregación directa del factor VIIa. (Fig. 5)²⁶

En conjunto, estas alteraciones en la función de la célula endotelial, provocadas por los AGEs, favorecerían la formación de trombos en los sitios de acumulación extracelular de dichos AGEs. Por otra parte, los productos de glicación avanzada inyectados experimentalmente en animales inducen un aumento en la permeabilidad vascular actuando sobre el receptor de AGE. En relación con la retinopatía, los AGEs modulan el crecimiento de las células endoteliales en los capilares retinianos. Finalmente, en estudios inmunocitoquímicos, la colonización de R-AGE (el receptor) de los AGEs en los sitios de lesión microvascular sugiere que su interacción puede jugar un rol significativo en la patogenia de las lesiones vasculares diabéticas.²

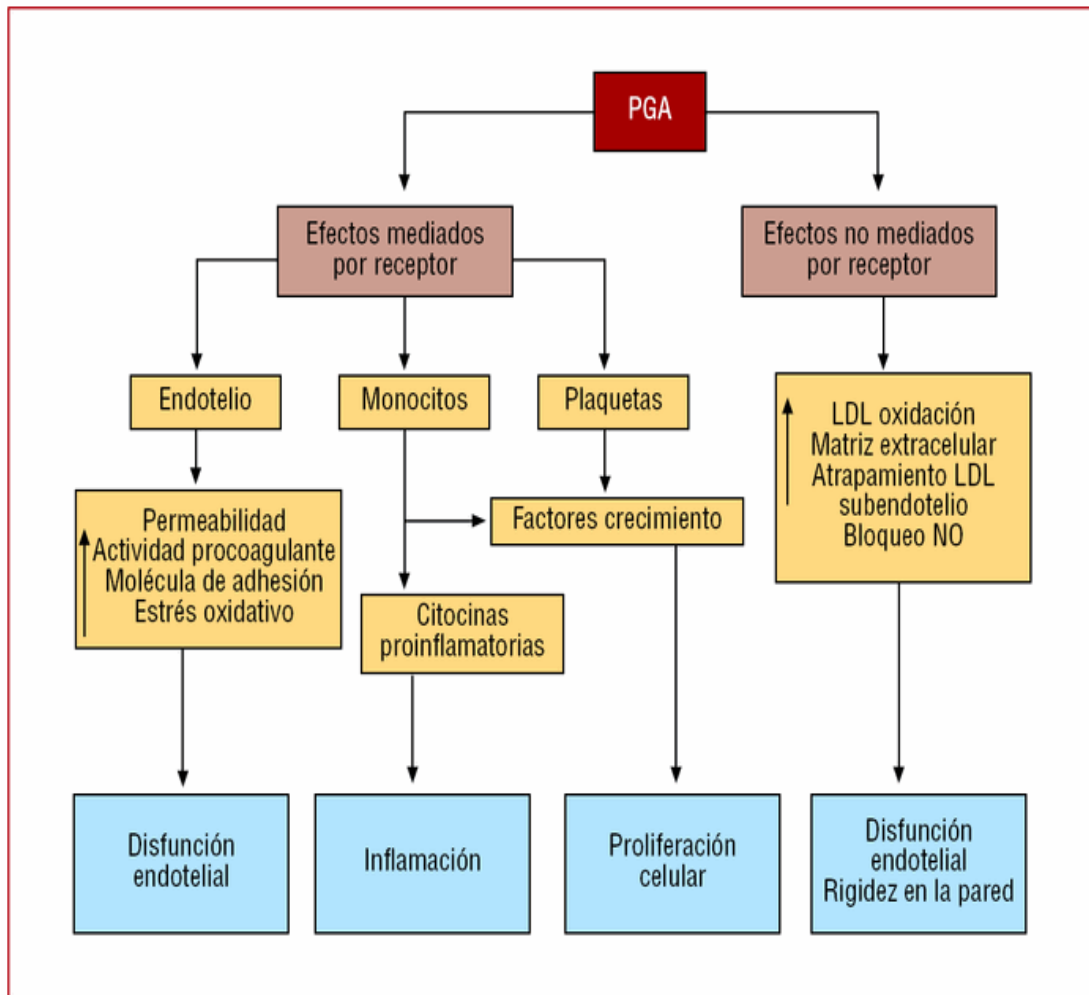


Figura 5 Consecuencia de la excesiva producción de AGEs.

6. INHIBIDORES DE LA FORMACIÓN DE AGES

Los esfuerzos actuales en la investigación de los procesos de glicación están dedicados a la búsqueda de procedimientos que permitan prevenir o evitar sus efectos.

In vitro esto es posible modificando los factores que aceleran estas reacciones. Disminuyendo la temperatura, bloqueando el grupo amino por acidificación del medio de reacción o bloqueando el grupo carbonilo con

otros compuestos- el sulfito de sodio es el más empleado- es posible retardar el proceso hasta que prácticamente no se produzca la unión de los reactivos. Estas estrategias han sido implementadas eficazmente en la industria alimenticia para prevenir la pérdida del valor nutritivo de los alimentos y la generación de productos tóxicos y agentes mutagénicos producidos por glucosilación durante su industrialización.⁵

Sin embargo, estos métodos no son aplicables al control de los efectos de la glucosilación en condiciones fisiológicas in vivo ya que son incompatibles con la vida. Una estrategia posible consiste en evitar el avance de la reacción una vez formada la base de Schiff. Esto requiere el bloqueo de los compuestos carbonílicos altamente reactivos (productos de Amadori y compuestos dicarbonílicos) que se forman durante las primeras etapas de glucosilación.

En este sentido se han ensayado derivados de la hidracina, que tiene mayor reactividad en los grupos amino frente a los compuestos carbonílicos; de ellos el que produjo un mejor resultado fue la Aminoguanidina este fue el principal inhibidor que se ha estudiado con detalle.^{2,5}

6.1. Aminoguanidina

Las consecuencias patológicas de la formación de puentes intercatenarios de los AGEs pueden prevenirse si se bloquean los productos iniciales de glicación. Sin embargo, el desarrollo de inhibidores específicos para la formación de AGEs se ha visto imposibilitado por la complejidad de las reacciones involucradas en su formación y la diversidad de productos formados.

Varios compuestos se encuentran en estudio. Desde principios de siglo, Maillard propuso la administración terapéutica de aminoácidos tales como la

alanina, para que al reaccionar con la glucosa contrarrestara las consecuencias potencialmente deletéreas de la hiperglucemia.

La aminoguanidina fue introducida como un reactivo de hidracina para atrapar grupos carbonilo reactivos formados durante la de reacción de Maillard, especialmente los productos de Amadori, evitando así su conversión a AGEs.²

La aminoguanidina ha demostrado ser químicamente más reactiva que el grupo épsilon-amino de lisina de las proteínas, debido a este, existe la hipótesis de que así podrían obtenerse productos tempranos de glicación avanzada no reactivos, y que de esta manera se impediría la formación de AGEs.

Los experimentos iniciales in vitro han demostrado que la aminoguanidina inhibe efectivamente la formación de AGEs, ya que bloquea los grupos carbonilo reactivos de los compuestos de Amadori y de sus derivados, principalmente con los intermediarios como 3-desoxiglucosona y glucoaldehído; evitando así la formación de puentes intercatenarios entre las proteínas solubles del plasma y la colágena, de la colágena con ella misma y de puentes que inducen a la formación de enlaces entre proteoglicanos y colágena, fibroconectina y membrana basal.^{2.5.7}

Actualmente la aminoguanidina se encuentra en la tercera fase de ensayos clínicos para su utilización en el tratamiento de las complicaciones renales asociadas a la diabetes.⁵

Por otra parte la aminoguanidina tiene baja acción tóxica ($DL_{50} = 1800$ mg/Kg) al menos en roedores y no interfiere con la formación normal de uniones o puentes producidos por acción enzimática.

Experimentalmente se ha demostrado también que tanto la formación de AGEs con fosfolípidos, como la oxidación de ácidos grasos que ocurre simultáneamente son inhibidas por aminoguanidina. La aminoguanidina también inhibe la oxidación de ácidos grasos que ocurre vía malon-

dialdehído, esto se observó al incubar LDL con cobre en lugar de glucosa, en presencia de aminoguanidina.

La aminoguanidina y otras sustancias similares han demostrado efectos positivos en la inhibición de la formación de AGEs, pero también tienen potencial toxicidad o efectos colaterales adversos, ya que pueden reaccionar con otros grupos carbonilo como los del fosfato de piridoxal, forma activa de la vitamina B6.^{5,7}

6.2. Amadorinas

Recientemente se han descrito nuevas moléculas capaces de bloquear la conversión de los productos Amadori en AGEs, entre los cuales se encuentran las denominadas genéricamente amadorinas.⁵

De las cuales la piridoxamina (piridonina) fue elegida como el primer miembro de esta clase de inhibidores, se está investigando su potencial terapéutico y por ahora ha dado mejores resultados que la aminoguanidina en diferentes modelos animales.⁷

Los resultados obtenidos indican que la aplicación de esta molécula podría ser efectiva en el tratamiento de las complicaciones que presentan las personas diabéticas.⁵ (Fig. 6)

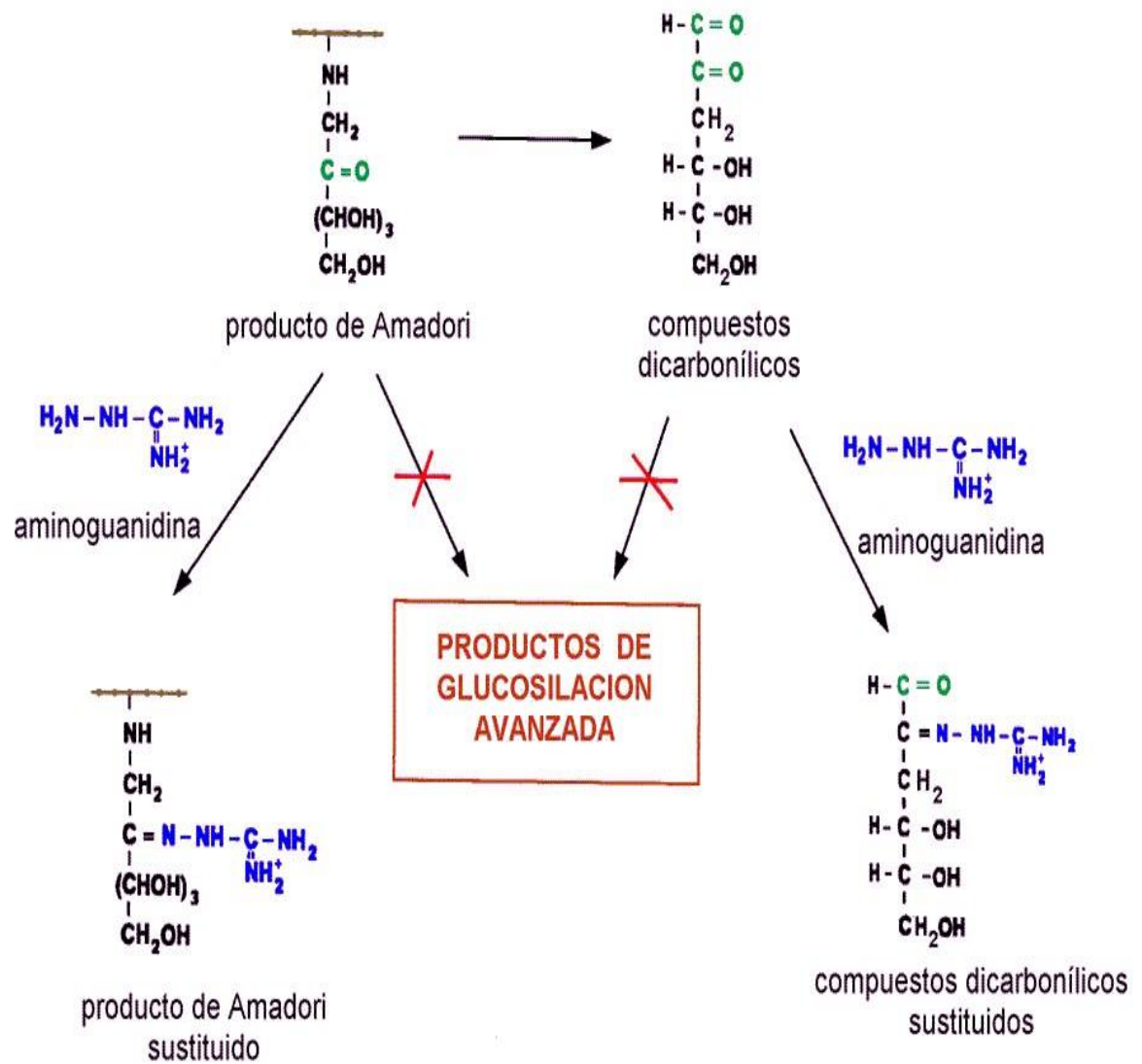


Figura 6. Prevención de la formación de productos de glucosilación avanzada mediante la aminoguanidina. La aminoguanidina se une preferentemente a los compuestos carbonílicos dando lugar a productos sustituidos que no permiten el avance de la reacción²⁵

7. PRODUCCIÓN EXÓGENA DE AGES

La producción de AGEs es predominantemente endógena, pero estos productos pueden ser introducidos en el cuerpo por fuentes exógenas, como el tabaquismo y la dieta.¹

7.1. AGEs en los alimentos.

La dieta es considerada la principal fuente exógena de AGEs y pueden ejercer una influencia importante en el desarrollo de diversas patologías, especialmente la diabetes.¹ Los AGEs están presentes en una amplia variedad de alimentos, preferentemente en aquellos procesados. Hay un gran número de estudios que muestran la asociación entre la dieta y AGEs, referidos principalmente al procesamiento de los nutrientes y el efecto que éste tiene en la formación de AGEs.⁸

La formación de AGEs en los alimentos se ven reforzada por métodos de elaboración que utilizan altas temperaturas y baja humedad (cocción al horno o a la parrilla), y alimentos ricos en contenido de materia grasa.¹ El calor aplicado en la cocción está directamente asociado al aumento en AGEs y otros compuestos dañinos para la salud, como por ejemplo aminas heterocíclicas y acrilamida. Un aspecto interesante, es que en ausencia de proteínas o calor, los niveles de AGEs no correlacionan con contenidos altos de azúcar, ni tampoco que la ausencia de azúcar predice bajos niveles de AGEs (como en preparaciones que contienen aditivos de caramelo preformados similares a AGEs).⁸ En la Figura 7, podemos apreciar algunos alimentos de consumo habitual, y sus concentraciones de CML.

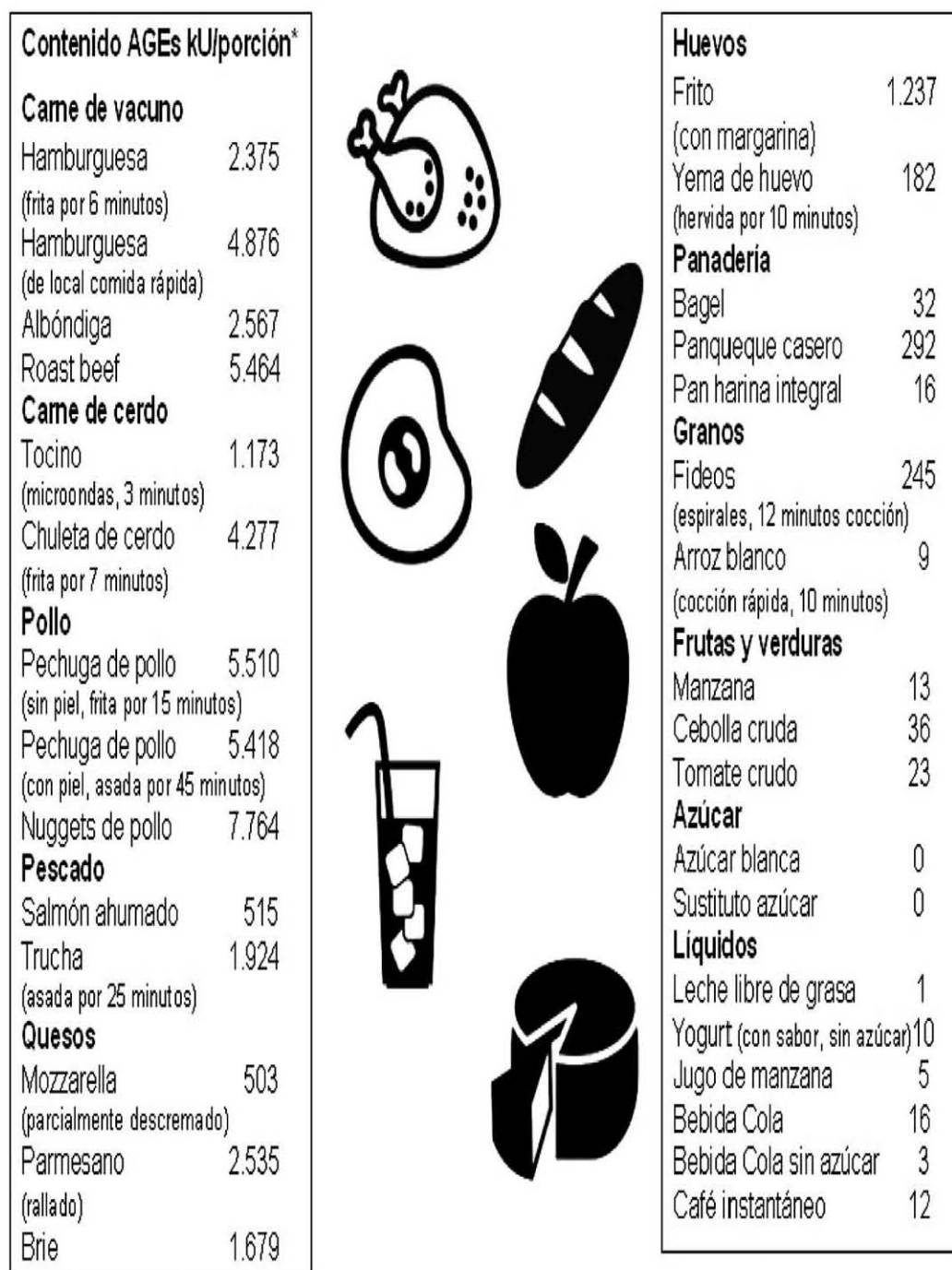


Figura 7 Concentración de AGEs (KU/porción) en función de mediciones de CML por la técnica de ELISA adaptado de uribarrí⁸

En general, y basándose en la ecuación:

Elevación en suero de AGEs (mg/dL) x volumen de plasma (dL) = Cantidad de AGEs en sangre (mg) que han sido absorbidos oralmente resultó ser aproximadamente el 10% de cantidad estimada a estar presente en el alimento ingerido. De los cuales, sólo un tercio fue excretado en la orina de personas con función renal normal.⁸

La evidencia de que la concentración de AGEs se ve incrementada en el suero y la orina de individuos normales, después de ingerir una dieta rica en AGEs, confirma que las estructuras conservadas en los AGEs sobreviven al proceso digestivo y que son transportados como moléculas de bajo peso molecular por el torrente sanguíneo, en conjunto con péptidos cortos y aminoácidos presentes en la digestión, en una manera directamente proporcional a la cantidad ingerida. Estos productos son consumidos de forma sostenida y acumulativa en la dieta, por años. Cabe hacer notar que las dietas de los niños son procesadas de la misma forma. Por otra parte, hay que mencionar, que la calidad nutricional de los alimentos se ve afectada durante el procesamiento, principalmente porque el calor induce la pérdida de aminoácidos esenciales durante reacciones de entrecruzamiento entre ellos, o durante reacciones de tipo Maillard con carbohidratos reductores.⁸

Con diferencia, los mayores contribuyentes de los AGEs parecen ser los productos lácteos, el pan, la carne, no solo porque son ricos en estos agentes químicos, sino porque también constituyen el conjunto de alimentos modernos. También las plantas contribuyen a la acumulación de AGEs, especialmente la fruta que contienen grandes cantidades de fructosa, la cual es altamente reactiva con proteínas y un contribuyente importante para el desarrollo de AGEs.¹

Los alimentos que contienen más AGEs son los siguientes:

Productos lácteos. El consumo de leche, aunque ha descendido durante los últimos 50 años, es aún muy elevado en el mundo occidental. Sin embargo el queso es un alimento que su uso ha aumentado en gran medida a causa del uso en alimentos rápidos como pizza, nachos, tacos, sándwiches. También la producción de leche entera en polvo, que contiene más AGEs que la leche líquida higienizada. En combinación con el bajo precio se puede explicar por qué las leches en polvo se utilizan de forma aumentada como ingredientes en productos alimenticios como el pan, las fórmulas infantiles, chocolates, helado etc. Un producto lácteo especialmente rico en AGEs son las natillas. Del 10 al 20% e incluso a veces hasta el 70% del aminoácido lisina es modificado en los tratamientos tecnológicos comunes (esterilización, pasterización, irradiación, etc.) de la leche.

La fructosil-lisina es la molécula modificada dominante, pero también se producen CML y pirralina durante el procesado de la leche. El contenido de azúcares, la concentración y el tiempo de la exposición a temperatura elevada, así como el tiempo de almacenamiento contribuyen de forma mayoritaria a la producción de AGEs.

El uso de microondas para calentar la leche aumenta también dramáticamente el contenido de productos de la reacción de Maillard.¹

Granos, cereales, y productos de pastelería. El consumo de pan se relaciona a menudo con enfermedades crónicas y se ha sugerido que está asociado con el contenido de moléculas proinflamatorias tales como el gluten en pan y productos elaborados a partir de algunos cereales, especialmente trigo, cebada y centeno. La corteza y las tostadas de pan al igual que pan crujiente y el pan de centeno son muy ricos en AGEs. El pan fresco completo contiene alrededor de 0,5 kU/gramo de AGEs y el pan tostado provee alrededor de 30 kU/ración. Los panqueques (10 kU/g) y particularmente los waffles tostados y

los bizcochos (1.000kU/ración) son fuentes de grandes cantidades de AGEs.^{1,8}

Carnes de buey, de pollo y pescado. El contenido de AGEs en la carne de buey de pollo y de pescado concretamente en el atún se ha descrito que es similar (50-60 kU/g) aunque el contenido depende mucho del método de preparación. El contenido de la pechuga de pollo, por ejemplo, aumenta desde el hervido al frito en horno: hervido (1.000kU/ración) < asado (4.300 kU/ración) < frito en horno (9.000 kU/ración).

Café, té, alcohol y cerveza. La semilla de café, como la hoja de tabaco no tratada, cuando está fresca, es una fuente extraordinaria de poderosos antioxidantes, pero cuando se tuesta a altas temperaturas llega a ser una fuente muy importante de AGEs. Esto en contraste con varios té y particularmente con el té verde y la hierba mate, que en gran medida mantienen su riqueza en antioxidantes y su capacidad para inhibir la nitración de proteínas y la segunda fase de glucosilación, y prevenir la conversión mediada por radicales libres de los denominados de los denominados productos de Amadori a AGEs irreversibles.^{1,3} el consumo de un alimento rico en AGEs, como el café (200 ml/día) se ha descrito que aumenta los niveles séricos de CRP en un 30%, el TNF- α en un 28% y la IL-6 en un 50%. El alcohol es citotóxico fundamentalmente debido a su principal metabolito, el acetaldehído(A A), un contribuyente principal de los AGEs. La fluorescencia AGE se observa que es significativamente más elevada en los individuos que abusan del alcohol que en los sujetos sanos o con un consumo de alcohol modesto. La cebada presenta una glicación muy aumentada durante el proceso de malteado, lo que sugiere que da lugar a las propiedades espumantes de la cerveza. La cerveza es también una fuente rica de AGEs. De igual forma, los licores ricos en azúcar podrían contener cantidades considerablemente más altas de AGEs que los aguardientes puros.¹

7.2. Tabaquismo precursor exógeno de AGEs

El humo es también una importante fuente exógena de AGEs. Durante la combustión de tabaco, las especies reactivas de AGEs se volatilizan, son absorbidos por los pulmones y pueden interactuar con las proteínas del suero. Esto se refleja en el hecho de que las concentraciones séricas de AGE y apoproteína B-AGE en los individuos fumadores son significativamente mayores que en las personas no fumadoras.¹

Es conocido que las enfermedades pulmonares, cardiovasculares, y las cataratas oculares se encuentran en mayor proporción en personas fumadoras que en los no fumadores.¹⁷ Se ha sugerido que algunos componentes del tabaco pueden reaccionar con proteínas del plasma y de la matriz extracelular de manera no covalente. Los AGEs generados en los fumadores interactúan con las LDL y con proteínas del cristalino. Por lo que se sugiere la implicación de los eventos bioquímicos descritos para los productos finales con glicación avanzada, en la generación de aterosclerosis y otras enfermedades relacionadas al consumo del tabaco.¹⁶

El cuerpo tiene mecanismos de defensa contra la acumulación de AGEs. Los sistemas de enzimas como la oxalaldehído reductasa y aldosa reductasa son capaces de influir en el pool endógeno de los AGEs y en la desintoxicación eficiente de los intermedios dicarbonílicos reactivos. Los sistemas enzimáticos glioxilasa I y II, fructosamina-3-quinasa y oxidasa fructosamina (amadoriasa) también son responsables de la interrupción de las reacciones de glicación en diferentes etapas. Sin embargo, en condiciones de exceso de AGEs, como la diabetes, hiperlipidemia, insuficiencia renal y en los individuos que consumen una dieta con alto contenido de AGEs, y personas fumadores, estos sistemas pueden no ser suficientes.

8. EXCRECIÓN DE AGES

El principal mecanismo de degradación de tejidos y células modificados por AGE es a través de receptores específicos de AGE en macrófagos. Después de la degradación, pequeños péptidos solubles de AGE son liberados y depurados por los riñones. Un deterioro en la función renal se traduce en una acumulación de AGE que puede llevar a una perturbación endotelial y, por lo tanto, a una enfermedad vascular. En este contexto, el “clearance” urinario de AGEs correlaciona directamente con el “clearance” de creatinina (Ccr).

En individuos diabéticos, o con enfermedad renal, sin embargo, la excreción renal de AGEs se ve afectada, por lo que presentan niveles elevados de AGEs en suero y excreción urinaria de AGEs reducida. Esta situación implica que los AGEs se acumulan plasmáticamente y por lo tanto, está el riesgo cierto de que reaccionen y se produzcan nuevos entrecruzamientos con proteínas plasmáticas.

Sólo un tercio de los AGEs detectados en el suero son detectados en la orina después de 48 horas, el resto probablemente se une covalentemente en tejidos y células.⁸

9. REPERCUSIONES CLÍNICAS RELACIONADAS CON LA GLUCOSILACIÓN NO ENZIMÁTICA DE LAS PROTEÍNAS DE LOS SERES HUMANOS

Desde el punto de vista clínico se ha implicado a la glicación en varias patologías y complicaciones de estas. Pero también en procesos normales de envejecimiento.

Entre varios mecanismos propuestos, hay evidencias que indican que la glicación conduce a modificaciones químicas de las proteínas que

contribuyen a la patogénesis de enfermedades crónicas aumentando alteraciones clínicas de las mismas.

9.1. Colágeno

La presencia de PFGA altera las propiedades funcionales de diversos componentes moleculares de la matriz extracelular. El colágeno fue la primera de las proteínas presentes en la matriz en la que se demostró la existencia de enlaces intermoleculares covalentes producidos por los PFGA, aunque también pueden afectarse la fibronectina y la laminina, entre otras proteínas. En el colágeno tipo I, la agregación molecular resultante del entrecruzamiento proteico induce una distorsión de la arquitectura molecular de la fibrilla y en el caso del colágeno tipo IV, dificulta la asociación lateral de estas moléculas e impide la formación de la típica estructura tridimensional sutil y compleja, que forman éstas al unirse entre ellas, porque se produce una reticulación anárquica de las fibras.^{1.5.11}

El colágeno es una proteína que por su ubicación está siempre expuesta a la glucosa presente en los líquidos extracelulares, lo que la hace especialmente vulnerable a la glucosilación; se producen entonces modificaciones estructurales que devienen alteraciones de la matriz extracelular. La aparición de estas alteraciones es uno de los mecanismos más importantes implicados en el desarrollo de las complicaciones en la diabetes mellitus. Muchas investigaciones han demostrado que las modificaciones ocurridas en el colágeno de los individuos diabéticos son similares a las que se producen con el envejecimiento del organismo. El colágeno de las personas no diabéticas se glucosila en progresión lineal en función de la edad, pero este fenómeno está muy acelerado en la DM, en la que se pone en marcha un proceso de formación de complejos (agregados) moleculares de entrecruzamiento, que se perpetúa aun en ausencia de glucosa, al estar ya bien establecido.¹¹

La glucosilación no enzimática del colágeno resulta en la formación de colágeno glucosilado que es distinto gracias al entrecruzamiento y disminución de la solubilidad.

Es así que se altera sus propiedades mecánicas como son:

- Pérdida de elasticidad
- Pérdida de fuerza tensora
- Incremento de rigidez
- Lo que determina la pérdida de funcionalidad

Todos estos cambios de las características del colágeno, lo hace más resistente a la digestión por colagenasa, por lo cual en vez de degradarse como es natural, se acumula y origina engrosamiento cutáneo.

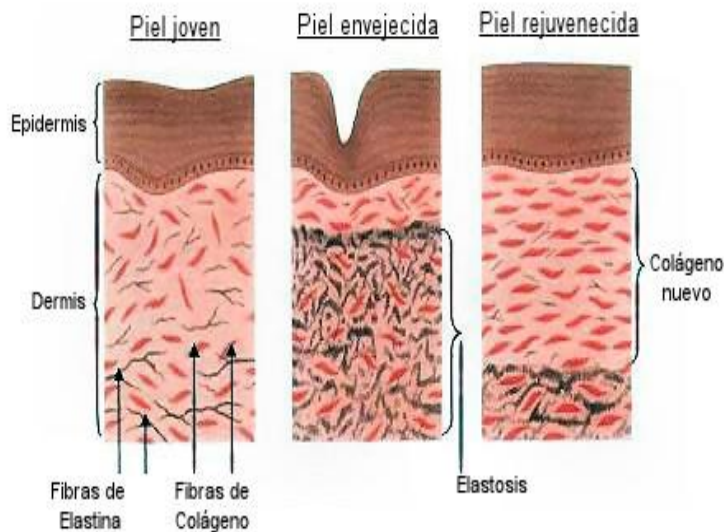
La limitación de la movilidad articular se observa tanto en pacientes mayores y diabéticos. Se debe a la acumulación de AGEs en el colágeno de la matriz extracelular de la cápsula articular, ligamentos y unidad musculo tendinosa.

Por otro lado cuando el colágeno del espacio subendotelial se glucosila, forma productos de entrecruzamiento no solo con otras moléculas de colágeno, sino también con algunas proteínas plasmáticas como la albúmina, las inmunoglobulinas y la LDL. De la acumulación de estas proteínas en el subendotelio, resulta, en parte, el engrosamiento, la disminución de la flexibilidad y el aumento de la permeabilidad que se presentan en las membranas basales capilares afectadas por la glucosilación, además de que puede producirse un estrechamiento de la luz vascular. Todo esto nos lleva al desarrollo de la enfermedad vascular. La inmunoglobulina G (IgG) atrapada por el colágeno glucosilado, conserva su capacidad de formar inmunocomplejos, que se producirían en este caso in situ, y se activaría después el complemento; lo cual dañaría aún más la membrana. Se ha comprobado también que la glucosilación de los componentes de la matriz

extracelular hace desaparecer la señal inhibitoria para la síntesis de éstos, los cuales comienzan a producirse de forma exagerada.

En el caso específico de la matriz extracelular del cartílago, la glucosilación de ésta provoca alteraciones fisicoquímicas de los proteoglicanos (glucosamino-glucanos) y atrapamiento de agua a este nivel, con disminución de la viscoelasticidad local. Las lesiones clínicas que tienen como base fisiopatológica común el proceso descrito antes, son la quiroartropatía diabética (mano endurecida, con piel engrosada y contractura de las falanges) y la enfermedad de Dupuytren, frecuentes, sobre todo, en los individuos diabéticos.

La glucosilación del colágeno en la DM se correlaciona con los niveles de HbA1c y disminuye cuando se logra un control glucémico óptimo por un período corto de tiempo. Se ha sugerido que esta glucosilación excesiva encontrada en los diabéticos puede depender no solo de la duración de la DM y del control glucémico promedio, sino también de las variaciones

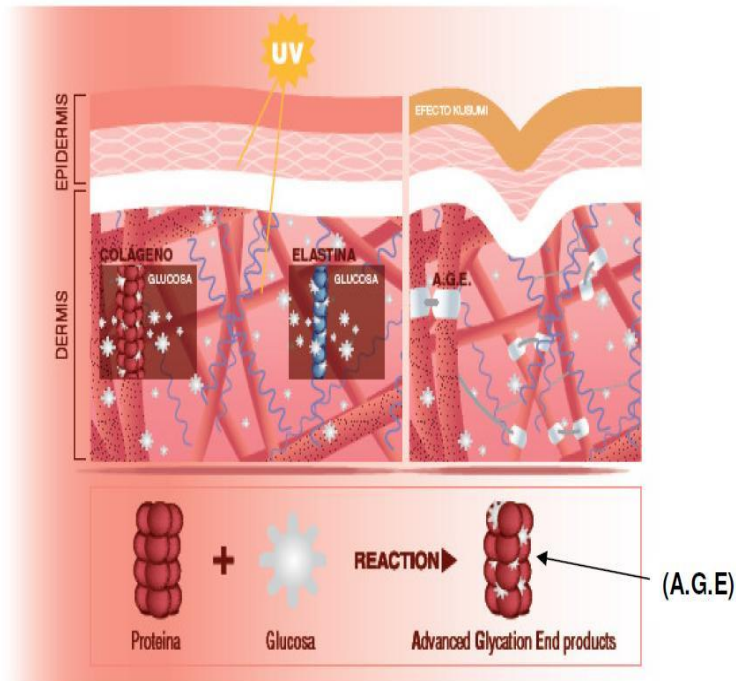


individuales del estrés oxidativo; por lo tanto, los sujetos diabéticos con una defensa antioxidante deficiente serían más propensos a desarrollar complicaciones tardías de la DM (fig. 8).¹¹

Figura 8 Repercusiones de AGEs en colágeno.

9.2. Elastina

Es la proteína que constituye los tejidos conjuntivos, óseos y cartilagosos y que proporciona elasticidad a la piel. Las fibras de elastina sujetan a las fibras de colágeno y las mantienen en su lugar y a diferencia del colágeno



(que confiere dureza, resistencia o firmeza a los tejidos), la elastina aporta flexibilidad y elasticidad, como bien indica su nombre. De hecho, tiene una enorme capacidad para estirarse (fig. 9)¹⁵

Figura 9. Glicación de elastina.

Puede llegar a recordar la acción de una cama elástica. La elasticidad es la capacidad de estirarse fácilmente y recuperar su estado anterior y esa es precisamente la función básica de las fibras que tienen como base la elastina y aunque está presente en todos los procesos en que están implicados los tejidos conjuntivos o conectivos y se une al colágeno para otorgar características útiles a los tejidos, cobra un mayor protagonismo respecto a su acción sobre la piel como órgano. La piel se ve directamente afectada por la cantidad y calidad de la elastina que contiene.⁸ Con el proceso de glicación la elastina pierde su funcionalidad. Clínicamente se pierde elasticidad en los tejidos, fuerza tensora, arrugas, flacidez, piel seca y frágil.^{15.19.29}

9.3. Cristalino

El cristalino está formado en un 65% de agua, cerca del 35% de proteína y huellas de minerales comunes en otros tejidos del cuerpo. El potasio está más concentrado en el cristalino que en la mayor parte de los tejidos. Hay ácido ascórbico y glutatión en formas tanto oxidadas como reducida. En el cristalino no hay fibras para dolor, vasos sanguíneos, ni nervios. La formación de las cataratas en pacientes diabéticos es inducida por el sorbitol y la fructosa y por las anomalías metabólicas que suceden en la diabetes. Se presentan en acúmulo en el porcentaje de glutatión a nivel de la corteza del cristalino.

El cristalino genera cambios de refracción súbitos en particular cuando la diabetes no está controlada, los cambios en la glucemia producen alteraciones en la potencia de refracción hasta en 3 o 4 dioptrías de hipermetropía o miopía produciendo un signo clínico característico: la visión borrosa (fig. 10).¹⁷



Las proteínas del cristalino son otras que pueden sufrir el proceso de glucosilación en presencia de altas concentraciones de glucosa.¹⁷

Figura. 10 Cambios clínicos en glicación del cristalino

Se ha podido demostrar que el sitio de reacción de las proteínas del cristalino con la glucosa es el grupo épsilon amino de la lisina. Experimentos realizados in vitro han evidenciado que cuando se expone una solución de proteínas del cristalino a la presencia de altas concentraciones de glucosa, la solución, que originalmente era transparente, se opacifica y esta opacidad es reversible si se le añaden agentes reductores a la solución, lo cual sugiere que la oxidación sulfihidráulica y, por tanto, el entrecruzamiento proteico son los causantes de la opacificación.¹¹

Se ha postulado que la glucosilación no enzimática de las proteínas del cristalino está relacionada con la formación de cataratas en el diabético, se pueden detectar en el cristalino de estos individuos cúmulos de un pigmento amarillo y fluorescente, que no son más que PFGA depositados en esta estructura ocular, situación que también ocurre durante el envejecimiento en individuos no diabéticos. En el cristalino se pueden formar dos tipos de enlaces proteicos no enzimáticos, ya sean entre diferentes proteínas estructurales o entre las proteínas y la glucosa, y estos son básicamente:

- El constituido por la unión de las proteínas mediante puentes disulfuro debido a la oxidación de los grupos sulfihidráulicos expuestos.
- El tipo que da lugar a la formación de PFGA, situación que está favorecida en este caso por la larga vida de las proteínas del cristalino. Esta última variante tiende a dar las características propiedades espectroscópicas de este tipo de alteración, que son similares a las de las cataratas seniles, también conocidas como brunescientes.

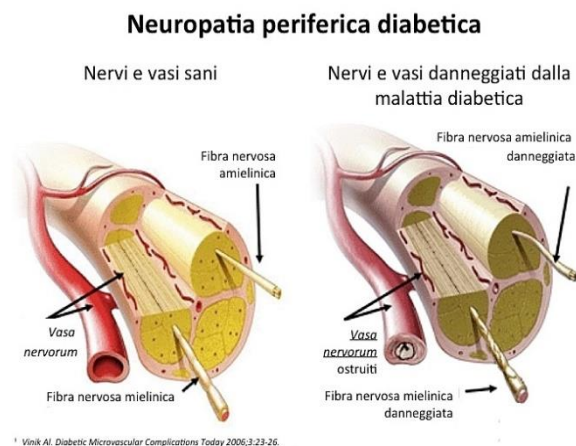
En el cristalino de los diabéticos, el incremento de la concentración de glutatión, resultado de un aumento de la vía de los polioles, puede actuar sinérgicamente con la glucosilación no enzimática, acelerando la formación de cataratas; asimismo, se ha comprobado que el uso de los inhibidores de

la aldosa reductasa disminuye la frecuencia de aparición de cataratas en los individuos diabéticos.¹¹

En individuos no diabéticos, los niveles de glucosa en el humor acuoso y en el cristalino son más bajos (50 y 20 %, respectivamente) que los existentes en el plasma. Las concentraciones intraoculares bajas de glucosa, combinada con los mecanismos antioxidantes, protegen al cristalino normal del desarrollo de cataratas; por otra parte, se plantea que los niveles elevados de glucosa, fructosamina y pentosidina intralenticular aumentan el proceso de cataratogénesis en los pacientes diabéticos.¹¹

9.4. Mielina

Se ha precisado que la mielina modificada por el proceso de glicosilación es identificada por determinados macrófagos («carroñeros»), que se unen a receptores específicos de PFGA, y entonces la mielina es incorporada al interior de estos macrófagos mediante el proceso de endocitosis, lo que justificaría la presencia de desmielinización segmentaria que se aprecia en los nervios de los individuos diabéticos afectados de neuropatía.



De igual manera, se ha evidenciado que la glicosilación también puede afectar a otras proteínas que componen el citoesqueleto axonal como, la tubulina y la actina; esto condiciona un enlentecimiento de la conducción nerviosa, y la

Figura 11 Daño de la mielina por glicación

atrofia y degeneración axonal. Otra proteína que puede sufrir glucosilación es la laminina, lo que provocaría la pérdida de la capacidad de regeneración de las fibras nerviosas en los sujetos diabéticos (fig.11).¹¹

En los nervios periféricos, la glicosilación del componente proteico de la mielina hace a ésta apetecible para ser fagocitada por macrófagos que tienen receptores de AGE (RAGE) contribuyendo así, junto con la glicosilación de la tubulina (lo que altera el transporte axonal) a la génesis de la neuropatía diabética.^{11.20}

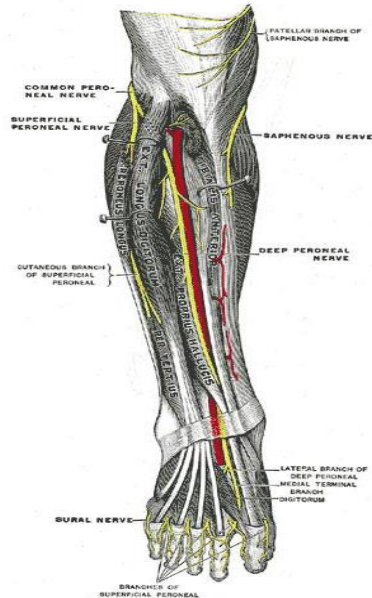
9.4.1. Neuropatía diabética

La glicación proteica provoca disminución del ensamblaje del citoesqueleto y agregación de proteínas, y aumenta las señales intracelulares por medio de los RAGE, lo que provoca estrés oxidativo y una respuesta inflamatoria.

Estos receptores se expresan en neuronas de pacientes diabéticos. En el nervio sural, peroneo y safeno de estos pacientes se han encontrado ligandos —AGE— de estos receptores, así como en células



Figura 12 Neuropatía diabética ²⁸



endoteliales, en pericitos de microvasos endoneurales y en fibras mielinizadas y no mielinizadas.

El contenido en pentosidina, en concreto, se observó aumentado en extractos proteicos de mielina y en el citoesqueleto del nervio sural. En ratas a las que se les indujo diabetes por tratamiento con estreptozotocina se

observó un aumento de pentosidina en las proteínas del citoesqueleto del nervio ciático, que disminuyó al practicarles un trasplante de islotes. Por tanto, el control glucémico de pacientes diabéticos daría como resultado una disminución de la glucación proteica en los nervios.¹⁴ (Fig.12)

Las neuropatías metabólico-microvasculares son las más frecuentes. La polineuropatía distal (DPN, por sus siglas en inglés) se caracteriza por disminución de la sensibilidad térmica-dolorosa, más severa en las regiones más distales de las extremidades. Su severidad aumenta con el empeoramiento del control glucémico. Algo similar sucede con la neuropatía autonómica, donde a los mecanismos metabólico-microvasculares de la DPN se agrega la glicosilación de los canales de sodio.²⁰ (Fig.13)

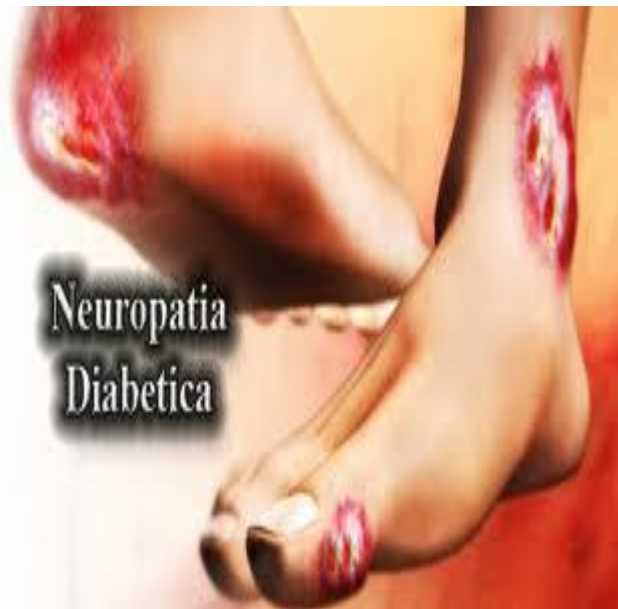


figura13 Lesiones en neuropatía ²⁶

9.5. Albúmina

Algunos estudios han demostrado que la albúmina es glucosilada de manera postrancricional y en abundancia en los individuos diabéticos, por lo que se ha planteado, que la medición de la albúmina glucosilada sería también de valor para evaluar el grado de control metabólico a corto plazo en estos sujetos. Por su parte, también se conoce que el mesangio tiene receptores para la albúmina glucosilada y que ésta produce a ese nivel un aumento de

la fibronectina y del colágeno tipo IV, lo cual condiciona una expansión mesangial que reduce el área glomerular filtrante y, en resumen, la filtración glomerular.¹⁸

Además, se ha comprobado que la albúmina glucosilada es casi tan potente como la glucosa para promover la síntesis del factor de crecimiento tisular β (TGF- β); el cual está implicado en la estimulación del engrosamiento de la membrana basal de los capilares glomerulares, alteración encontrada con mucha frecuencia en el riñón de los diabéticos.^{13.19}

Por otro lado un estudio experimental reciente demuestra que la suplementación de la albúmina sérica modificada por AGEs da lugar a un incremento en los niveles de secreción de citocinas, maduración aumentada de las células dendríticas y capacidad aumentada para estimular la proliferación de células T.^{1,11} (Fig. 14)

Se observa un descenso en la función renal y el aclaramiento de forma paralela a los incrementos de AGEs circulantes.^{1,2}

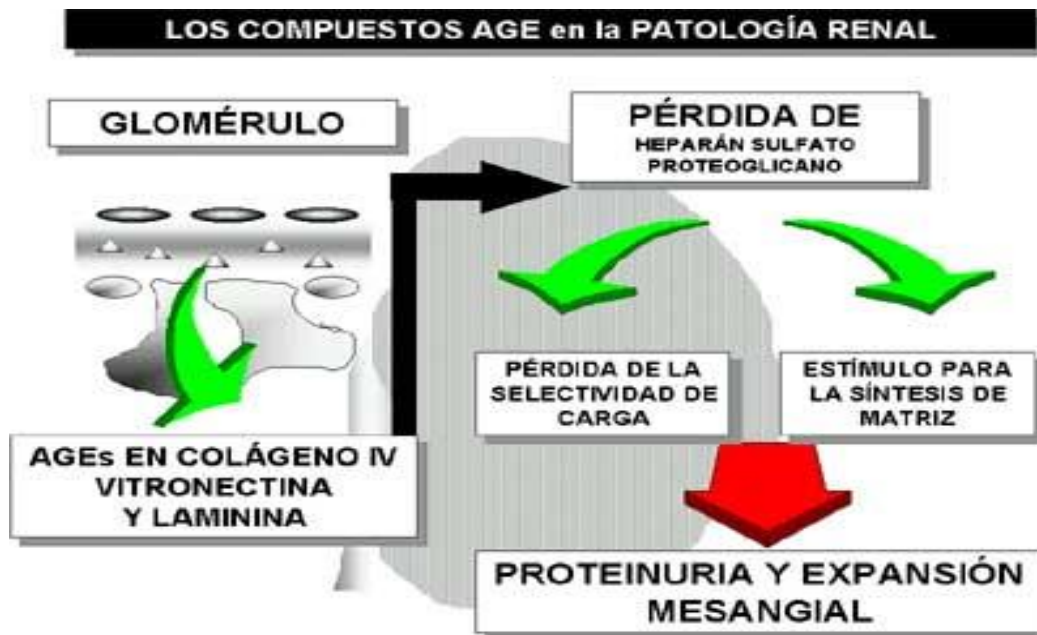


Figura 14 Productos de glicación avanzada en nefropatía.²

9.5.1. Nefropatía diabética

La nefropatía diabética es una de las principales complicaciones microvasculares en la diabetes de tipo 1 y de tipo 2, y causa un importante incremento de morbilidad y mortalidad en estos pacientes. La generación de AGE provoca daño tisular y se considera uno de los mecanismos patogénicos más relevantes de la nefropatía diabética. Asimismo, se ha descrito la acumulación de pentosidina en el glomérulo renal de pacientes con diabetes.¹⁴

El riñón tiene como principal función el filtrado de la sangre que le llega por la arteria renal. Cada riñón tiene en su corteza alrededor de un millón de minúsculas unidades llamadas nefronas, y es en ellas donde se lleva a cabo la filtración. Las nefronas están formadas por una pequeña bolsa llamada cápsula de Bowman. En el interior de esta bolsa se agrupa un entramado de capilares sanguíneos, que en su conjunto se denomina glomérulo. En los vasos del glomérulo se produce la filtración y el producto de esta filtración es depositado en el espacio de la cápsula de Bowman; éste se comunica con unos conductos tubulares, donde tras sufrir diversos procesos de concentración, llega a los uréteres. El marcador clínico más temprano de la enfermedad renal diabética es la microalbuminuria, definida como presencia en la orina de 20 a 200 microgramos por minuto o 30 a 300 miligramos por 24 horas de la proteína más abundante en sangre, la albúmina.^{18.19}

Los AGEs están implicados en los cambios estructurales observados en la progresión de las nefropatías tales como la glomeruloesclerosis, fibrosis intersticial, atrofia tubular.¹

El primer signo clínico fiable de una nefropatía incipiente es la aparición de microalbuminuria. Con el tiempo, la nefropatía evoluciona y clínicamente se manifiesta como la aparición de proteinuria, hipertensión e insuficiencia renal. Existe una buena correlación entre la expansión de la región del mesangio, la

severidad de la fibrosis intersticial y la arteriosclerosis, con el descenso de la tasa de filtración glomerular (TFG). Ello tiene como consecuencia que la expansión mesangial reduce la filtración glomerular por oclusión de los capilares glomerulares y disminución del área efectiva para la filtración. De la misma manera, la fibrosis túbulo intersticial altera la arquitectura y función tubular y ello conduce a insuficiencia renal. Debido a la importancia de la expansión del mesangio y la fibrosis túbulo intersticial, la investigación se ha centrado en los mecanismos que conducen a la acumulación de matriz, tanto al aumento en la síntesis como la disminución en su degradación.^{18,19} (Fig. 15,16)

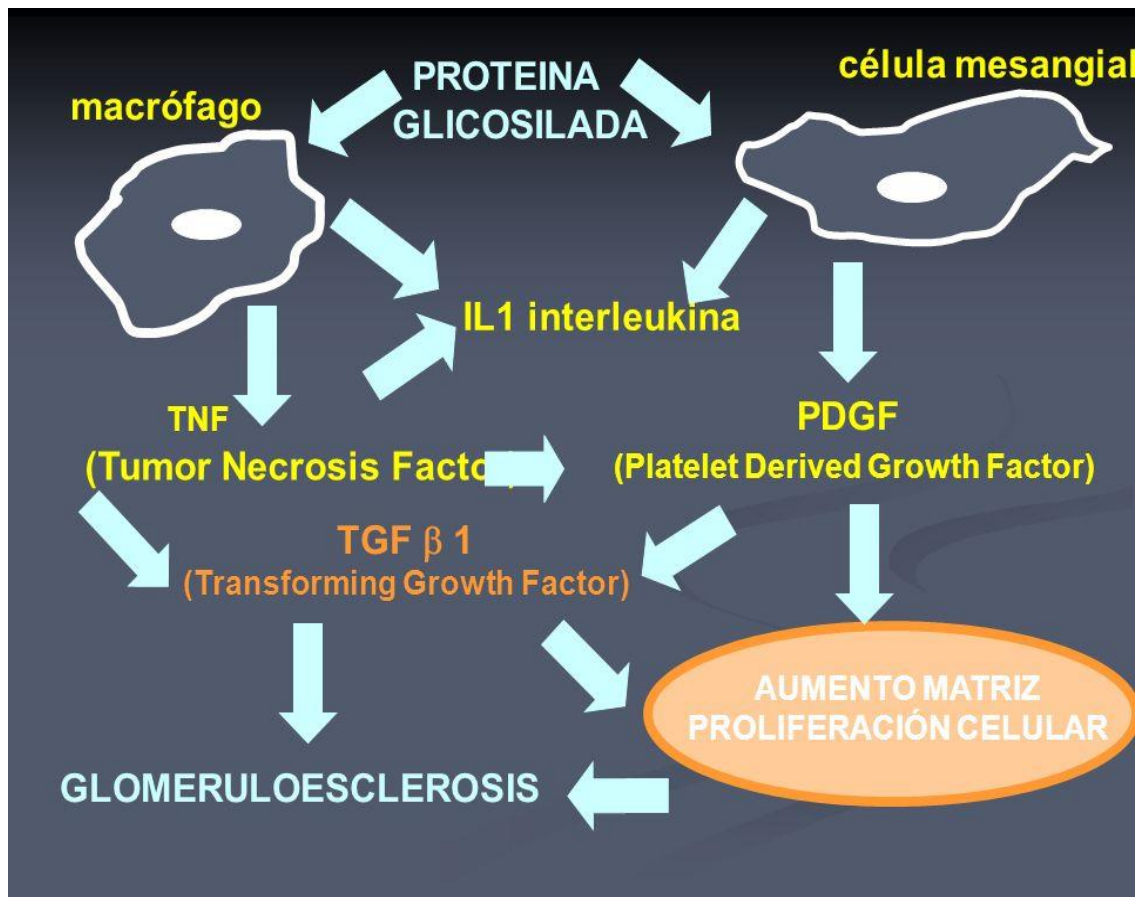


Figura 15 interacción de AGES en la nefropatía.¹⁹

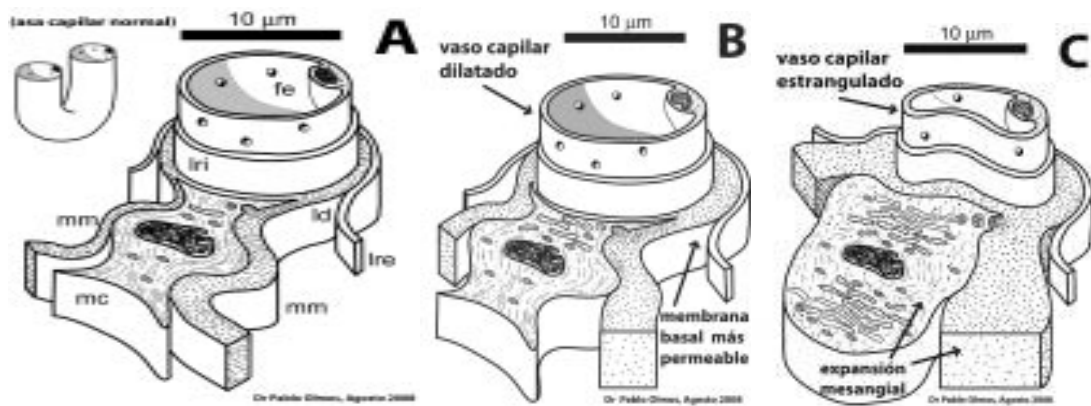


Figura 16 Nos muestra el Asa glomerular renal en tres etapas: normal, hiperfiltración-microalbuminuria y macroalbuminuria-insuficiencia renal. (A) Normal: ef =endotelio fenestrado; lre =lámina rara externa; ld =lámina densa; lri =lámina rara interna; cm =célula mesangial; mm =matriz mesangial. (B) Hiperfiltración microalbuminuria: Después de años de hiperglicemia, el vaso capilar glomerular se dilata, debido tanto a la relajación de la célula mesangial, como a la vasoconstricción de la arteriola eferente. Simultáneamente, la membrana basal se hace más permeable a la albúmina

(C) Macroalbuminuria-insuficiencia renal: Después de décadas de hiperglicemia, la suma de la hipertrofia del citoplasma de la célula mesangial, más la acumulación de matriz mesangial, llevan a la “expansión mesangial”. El resultado es el progresivo estrangulamiento capilar, que si no se detiene a tiempo, lleva a la insuficiencia renal.¹⁰

9.6. Hemoglobina glucosilada

La hemoglobina es una proteína presente en los glóbulos rojos que transporta el oxígeno a los órganos de su cuerpo y los tejidos y transporta el dióxido de carbono de los órganos y tejidos de nuevo a los pulmones (fig.17).⁹

Transporte de oxígeno en la sangre

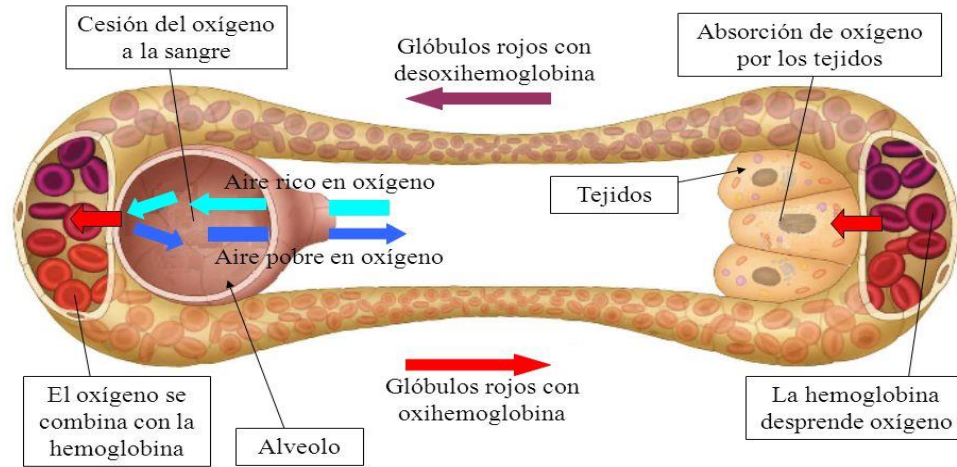


Figura 17 transporte de oxígeno en la sangre

La formación de glucoproteínas en sujetos normales y en los diabéticos, está por lo general bajo el control enzimático; no obstante, se ha comprobado que azúcares reductores pueden reaccionar con las proteínas no enzimáticamente, tanto in vivo como in vitro, fenómeno que fue primero observado en la molécula de hemoglobina (HbA). El eritrocito adulto está constituido por 90 % de hemoglobina A (HbA); por otra parte, las hemoglobinas A2 (HbA2) y F (HbF) son productos de diferentes genes de globina, y se diferencian en la presencia de una cadena lambda y otra sigma, respectivamente, mientras que comparten la cadena alfa. Las hemoglobinas menores o remanentes se forman por modificaciones postranscripcionales de la hemoglobina A0 (HbA0), y estas son las hemoglobinas A1a (HbA1a), A1b (HbA1b) y A1c (HbA1c), las cuales fueron en un inicio separadas por cromatografía de intercambio catiónico y designadas así por su orden de selección. Dentro de la hemoglobina existen varias clases, cada una presenta unas características especiales para unirse a la glucosa^{5.11}

En concreto la hemoglobina A1 tiene tres fracciones a, b y c; ésta última tiene la característica de tener una unión con la glucosa mucho más fija y específica.⁹

El término de hemoglobina glucosilada se refiere a una serie de componentes menores de hemoglobina, los cuales se forman de la unión de la hemoglobina con varios azúcares. La reacción entre la hemoglobina y la glucosa es un ejemplo de glucosilación no enzimática, la cual es lenta, continua e irreversible. El eritrocito humano es libremente permeable a la glucosa y dentro de cada eritrocito la hemoglobina glucosilada (HbA1) se forma a partir de la HbA a una velocidad dependiente de la concentración de glucosa en el medio. Los componentes menores de la hemoglobina poseen diferentes cargas eléctricas, designándoseles como «hemoglobinas rápidas», porque ellos presentan menos cargas positivas a pH neutro y migran más rápido que la HbA, cuando se exponen a un campo eléctrico.¹¹

La más importante de estas hemoglobinas rápidas, en relación con la DM, es la HbA1c, en la cual la glucosa está unida al extremo amino terminal de la valina de la cadena beta de la hemoglobina. Ésta representa alrededor de 3 a 6 % de la hemoglobina total de la célula roja normal y ha sido ampliamente estudiada. Se ha confirmado que la HbA1c surge como una modificación postranscripcional de la HbA0 y su formación depende del nivel de glucosa existente; asimismo, se ha observado que los eritrocitos más viejos contienen más HbA1c (fig.18).^{5,11}

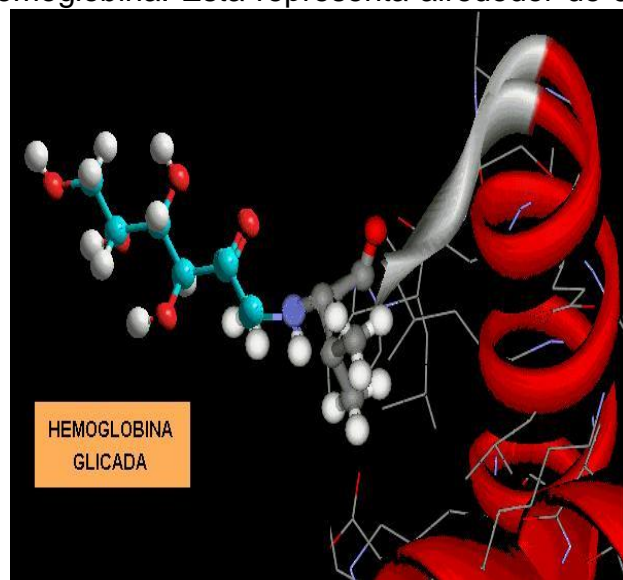


Figura 18. Glicación de hemoglobina

La HbA1c se forma por la unión de una molécula de glucosa con el grupo amino terminal de la valina de la cadena beta de la HbA, formándose la llamada «pre A1c», la que posteriormente forma una unión cetoamínica más estable durante un rearrreglo de Amadori. Algunos estudios sugieren que no solo el grupo amino terminal de la valina de la cadena beta de la HbA es el sitio de glucosilación de esta proteína, también se han encontrado residuos de glucosa en las cadena beta y alfa, en el grupo épsilon amino de los residuos de lisina, lo que sugiere que la glucosilación de la hemoglobina es menos específica de lo que inicialmente se sospechaba. El significado funcional de la glucosilación de las hemoglobinas se apoya en el hecho de que el azúcar ocupa el sitio de unión del 2-3 difosfoglicerato, compuesto que constituye un importante modificador de la función de la hemoglobina, porque reduce la afinidad por el oxígeno de esta proteína. Cuando el sitio de unión está bloqueado por la glucosilación, la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno se incrementa, por lo tanto, la HbA1c se une más fuertemente que la HbA al oxígeno; no obstante, no parece que estos cambios en la afinidad de la proteína por el oxígeno estén implicados en la patogénesis de las complicaciones crónicas de la diabetes.^{3,9}

El fenómeno Amadori ocurre continuamente y es irreversible por lo que esa unión va a durar toda la vida de ese hematíe. La media de glucemia sanguínea en las personas sin diabetes es de 100 mg% aproximadamente, lo cual corresponde a una hemoglobina glicosilada del 5 %.^{9,11.}

Dado que la vida media de nuestros glóbulos rojos es de 3 meses, el test nos informará del grado de control durante los últimos 3 meses. El resultado de la Hgb A1c no es únicamente una simple media de nuestros niveles de azúcar durante ese periodo sino que se trata de una media ponderada con lo que los resultados se ven mucho más influenciados por la mayor representación en nuestra sangre de los hematíes más jóvenes y por eso se acepta que solamente el grado de control del último mes contribuye al 50 % del

resultado. Se acepta generalmente que cada 1 % de elevación de la Hgb A1c representa un aumento de la glucemia media en 30 mg%.¹¹

Según la American Diabetes Association (2011) los siguientes son los resultados cuando el HbA1c se está usando para diagnosticar diabetes:

- Normal: menos de 5.7 %
- Prediabetes: 5.7 a 6.4%
- Diabetes: 6.5% o superior.⁹

9.7. Fibrinógeno

La fibrinólisis es un sistema de defensa natural contra la trombosis. En condiciones fisiológicas, existe un balance entre los activadores del plasminógeno y los inhibidores; una alteración en este balance puede ser causado por una disminución del activador tisular del plasminógeno (tPA) o un incremento en los niveles del inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI 1). La hipofibrinólisis está frecuentemente asociada con DM2 y se han postulado dos hipótesis. Primero, la hiperglucemia permite el proceso de glicosilación de proteínas como el Fibrinógeno (Fg) que afecta la estructura fisiológica del coágulo, y por esto es más resistente a la degradación por la plasmina, y la segunda hipótesis se basa en los niveles elevados de PAI 1 hallados en diferentes estudios en pacientes diabéticos. En la DM1 la contribución específica de la hiperglucemia al estado protrombótico es más clara, ya que carecen de los factores de riesgo que confunden la relación en pacientes con DM2. Es conocido que el aumento de las concentraciones de PAI- 1 en la sangre está asociado con una incidencia de trombosis venosa y embolia pulmonar. Tal asociación es de esperar en base a la inhibición por PAI-1 de la lisis de los trombos incipientes en el sistema venoso. Concentraciones elevadas de PAI-1 se han observado consistentemente en pacientes con DM2. Los sujetos obesos con diabetes mostraron una

elevación de tres veces mayor de PAI-1 en sangre en comparación con los valores en individuos sin diabetes mientras que no se observó ninguna diferencia en los valores de t-PA. Un estudio a largo plazo estableció una correlación altamente significativa entre los niveles de hemoglobina glicosilada (HbA1c) durante 18 años, y la actividad fibrinolítica deteriorada por elevación del PAI-1 y la disminución del activador del plasminógeno tisular (t-PA).^{11.12}

9.8. LIPOPROTEÍNAS

9.8.1. Lipoproteínas de baja densidad

Otras proteínas plasmáticas que pueden sufrir el proceso de glucosilación-oxidación, son las lipoproteínas, favorecido por la presencia en éstas de ácidos grasos poliinsaturados, que se pueden oxidar con facilidad. Las lipoproteínas glucosiladas, oxidadas y glucooxidadas están implicadas en la patogenia de la enfermedad microvascular y macrovascular en la diabetes mellitus, porque son especialmente aterogénicas, sobre todo, la LDL, la cual ha sido la más estudiada y puede presentar diferentes modificaciones:

- descenso de 25 a 60 % de su contenido de ácido siálico,
- una disminución de su diámetro
- un aumento de su densidad
- un aumento de electronegatividad.

En el caso particular de las LDL, la glucosilación interfiere en el reconocimiento de ésta por su receptor hepático, lo que disminuye su aclaramiento plasmático y aumenta su permanencia en la sangre, situaciones que favorecen que sea captada por la íntima vascular, desde donde migra luego al espacio subendotelial y allí es ingerida por un

macrófago, quien no puede metabolizar en su interior el colesterol y se convierte en una célula espumosa, componente fundamental de la placa de ateroma (fig. 19)²⁷

Se plantea que existen tres posibles vías de formación de PFGA-LDL:

1. Por modificaciones de la LDL producidas directamente por las elevadas concentraciones de glucosa en sangre.
2. Por su interacción con PFGA circulantes preformados.
3. Por medio de la unión de PFGA a los fosfolípidos de la LDL en el espacio extravascular⁵

En las LDL se puede glicosilar tanto el componente proteico como el lipídico. La glucosilación puede afectar a las clases de apoproteínas de todas las lipoproteínas y específicamente, a la apo B100 en el caso de las LDL. También pueden glucosilarse en las lipoproteínas, los fosfolípidos que tienen grupos amino libres, como la fosfatidiletanolamina, y hasta la lecitincolesterol acil-transferasa (LCAT), enzima encargada de la esterificación del colesterol de las lipoproteínas y que está presente en la superficie de éstas.

La glucosilación-oxidación de las LDL interfiere en el reconocimiento de estas lipoproteínas en el hígado por su receptor específico de membrana, lo que deviene en la disminución de su fijación a este y, consecuentemente, de su degradación, lo cual favorece el incremento de su nivel plasmático y su deposición en las arterias. Así, esta LDL modificada es atrapada con mayor facilidad por la íntima arterial e ingerida más ávidamente por los macrófagos, que se convierten entonces en células espumosas. Por otro lado, estas LDL también adquieren propiedades inmunogénicas y forman inmunocomplejos in situ (en la pared arterial), los cuales estimulan la transformación de los macrófagos en células espumosas; además, las LDL son fuente de radicales libres y estimulan la liberación de tromboxano B2, así como la agregación

plaquetaria (efecto protrombótico). Todas estas situaciones contribuyen a aumentar la disfunción endotelial en el individuo diabético.¹¹

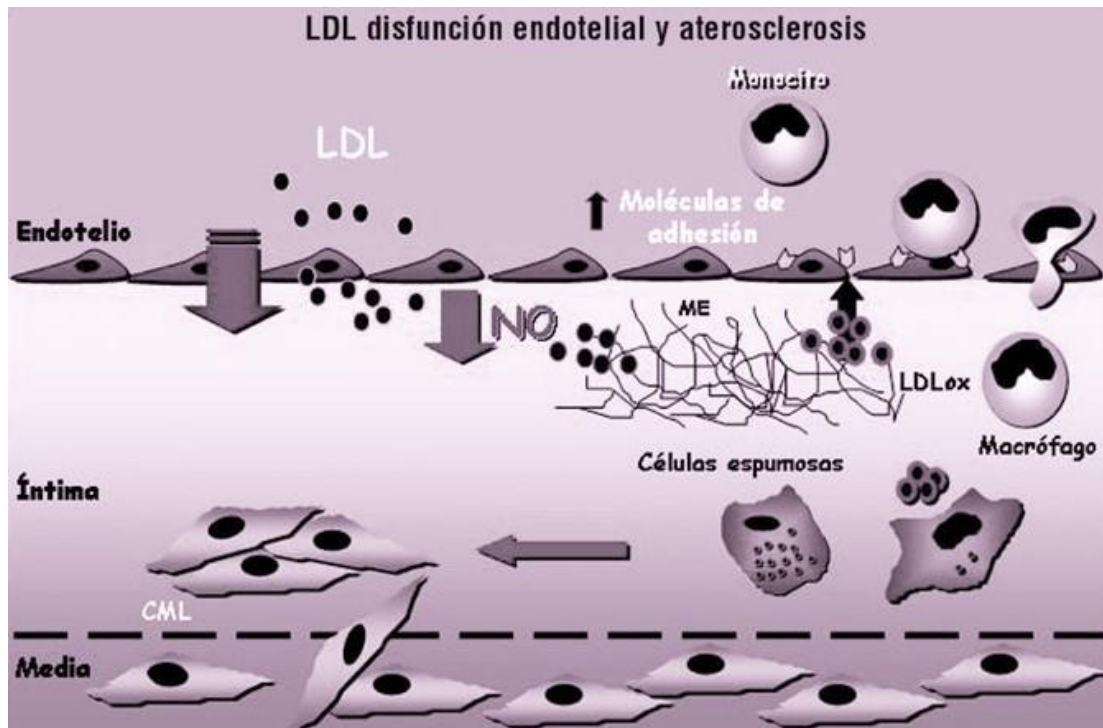


Figura 19 Repercusión de la glicosilación de LDL.

9.8.2. Lipoproteínas de muy baja densidad

En el caso específico de las VLDL, su glucosilación disminuye el aclaramiento plasmático, debido a que reduce su afinidad por la lipoproteína lipasa (enzima encargada de la hidrólisis de los triglicéridos en la sangre), lo cual condiciona que aumente su tiempo de permanencia en el plasma; situación que es responsable de la hipertrigliceridemia en ayunas y posprandial, que aparece con mucha frecuencia en los individuos diabéticos, sobre todo, cuando su enfermedad metabólica no está bien controlada. Se ha planteado que la glucosilación de la apo E, (lo que disminuye la capacidad de unión de esta apoproteína a la heparina), sería una de las alteraciones surgidas en las VLDL glucosiladas, que contribuiría a la disminución de su

degradación. Por otro lado, el aumento de la vida media plasmática de las VLDL, permitiría una mayor exposición de éstas a la proteína transportadora de ésteres de colesterol (CETP), la cual es responsable del intercambio de colesterol esterificado y triglicéridos entre las diferentes lipoproteínas; esto facilita la transferencia a las VLDL de colesterol esterificado, de parte de las HDL a cambio de triglicéridos, lo que aumentaría la aterogenicidad de las VLDL.¹¹

9.8.3. Lipoproteínas de alta densidad

Las lipoproteínas de alta densidad sufren modificaciones estructurales por lipoxidación, glicosilación o degradación enzimática, perdiendo sus propiedades citoprotectoras y antiinflamatorias.¹ La glucosilación de HDL puede afectar a su componente lipídico y proteico (apoproteínas y LCAT). La glucosilación de la apo AI (principal componente proteico de la HDL) determina una inhibición marcada de la unión de alta afinidad de la HDL a su receptor de fibroblastos y, como consecuencia, disminuye la remoción de colesterol de los depósitos intracelulares, mediada por receptores. Asimismo, la apo AI glucosilada tiene disminuida su capacidad de activar a la LCAT, enzima que proporciona una fuerza directriz en el transporte reverso del colesterol, al esterificar el colesterol removido por las HDL. Por otra parte, estaría aumentada la transferencia mediada por la CETP de colesterol esterificado de las HDL a las VLDL y LDL (reacción proaterogénica), de lo cual es responsable también la glucosilación del componente apoproteico de la HDL, lo que determinaría un incremento de la formación de LDL, y del contenido de colesterol de las LDL y de su parte aterogénica, respectivamente. No siendo suficiente, se ha comprobado que puede producirse también la glucosilación de la lipoproteína A y que eso aumenta la aterogenicidad de esta última.¹¹ (Fig. 20)

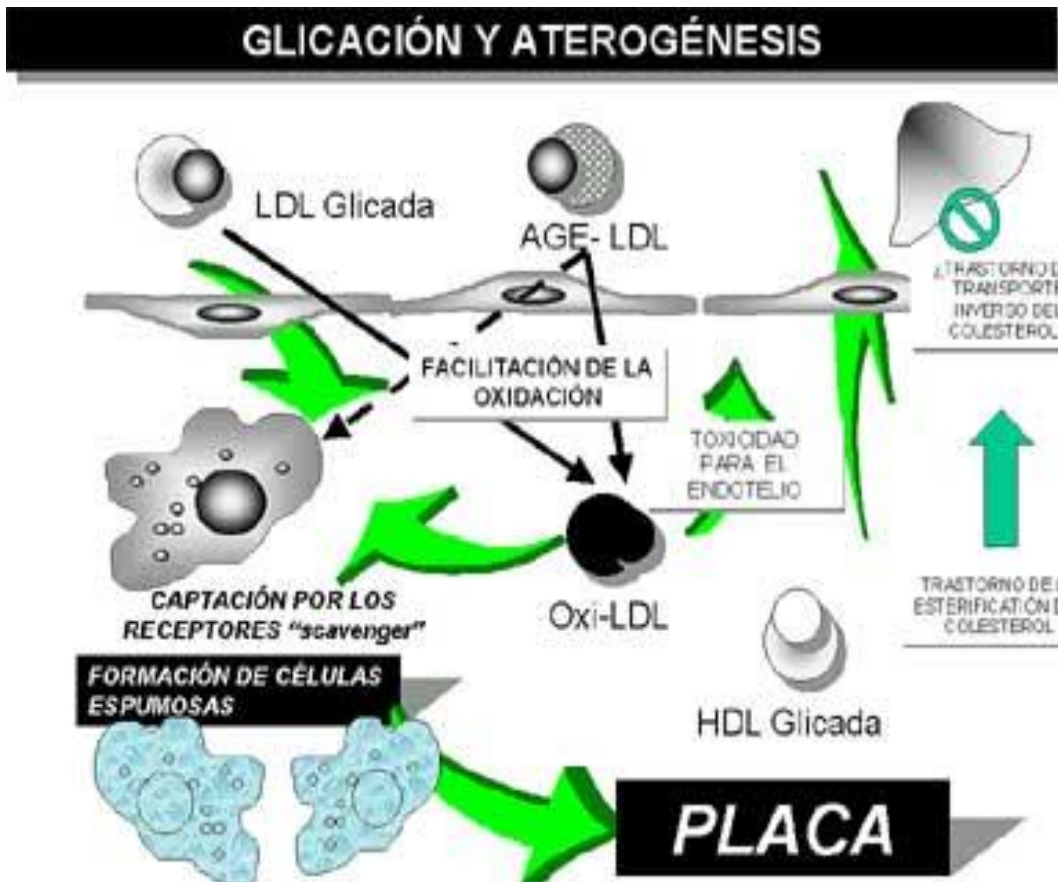


Figura 20 Representación esquemática de las vías por las cuales la glicación de lipoproteínas puede acelerar la aterosclerosis.²

Por otra parte, muchas proteínas de las membranas celulares, que por tener esta ubicación están en contacto con la sangre y/o el líquido intersticial, son susceptibles a estar expuestas a altas concentraciones de glucosa en los individuos diabéticos. Se ha comprobado, que las proteínas de la membrana de los eritrocitos de estos sujetos, presentan dos veces más glucosilación que la de los no diabéticos. Anormalidades funcionales de estas células, como la disminución de su supervivencia y el incremento de su adherencia a las células endoteliales, que se han detectado en diabéticos, pueden estar relacionadas con las alteraciones estructurales y funcionales de las proteínas de membrana causadas por la glucosilación. Así, el funcionamiento de la membrana basal puede afectarse directamente con la glucosilación de sus

componentes proteico y lipídico, lo que disminuiría su permeabilidad; pero además, puede alterarse la actividad de proteínas membranales específicas como, la bomba de calcio y la calmodulina, lo cual también afectaría el desempeño celular normal. Otra enzima intracelular que puede glucosilarse es la superóxido dismutasa, que constituye uno de los integrantes de la defensa antioxidante del individuo, por lo que la inhibición de su actividad como consecuencia de la glucosilación podría incrementar el efecto nocivo de los radicales libres sobre el organismo.

Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) sufren modificaciones estructurales por lipoxidación, glicosilación o degradación enzimática perdiendo sus propiedades citoprotectoras y antiinflamatorias, lo que indica su importancia en la patogénesis de la aterosclerosis pero también en las enfermedades neurodegenerativas, diabetes y otras enfermedades autoinmunes.¹¹

10. INTERFERENCIA DE AGES CON OSTEOCITOS

En un estudio reciente se demostró que los niveles séricos de los AGEs carboximetil-lisina y pentosidina se encuentran aumentados en pacientes con osteoporosis, cuando se los compara con individuos sanos.¹

A nivel celular, los AGEs interactúan con receptores específicos tales como el RAGE, y así podrían modular no sólo la diferenciación y mineralización osteoblástica, sino también la osteoclastogénesis. De esta manera pueden reducir tanto el remodelado óseo como el recambio de colágeno, facilitando la acumulación de más AGEs en la matriz extracelular ósea.

El exceso de AGEs resultante puede contribuir entonces a las alteraciones óseas que se observan en el envejecimiento y en la Diabetes Mellitus. El aumento en la resorción ósea inducida por los AGEs, fue apoyada *in vivo* demostrando que partículas óseas modificadas por AGEs eran resorbidas en mayor extensión que las partículas controles no glicadas, cuando se implantaron subcutáneamente

Se ha demostrado que el proceso de resorción se inhibía fuertemente cuando los osteoclastos maduros se plaqueaban sobre cortes delgados de marfil conteniendo pentosidina, una estructura AGEs bien caracterizada. Esta inhibición de la resorción ósea fue confirmada por una marcada reducción de la liberación de fragmentos de colágeno tipo I generados por las enzimas colagenolíticas secretadas por los osteoclastos, hacia el medio de cultivo de las matrices mineralizadas modificadas por AGEs. Este efecto es, probablemente, el resultado de una disminución de la solubilidad de las moléculas de colágeno modificadas por AGEs

Aunque los mecanismos siguen siendo desconocidos, se ha sugerido que los AGEs pueden interferir con la diferenciación de los osteoclastos y con su actividad resorptiva a través de la interacción con receptores específicos de superficie celular. Tanto los progenitores de los osteoclastos como los osteoclastos maduros expresan diferentes receptores para AGE, incluyendo al RAGE (receptor de AGE). Adicionalmente la importancia de la interacción de AGEs y su receptor RAGE en la maduración de osteoclastos y su función, ha sido demostrada por Zhou y col. Estos autores sugieren que la interacción de los AGEs con el RAGE tendría importantes consecuencias sobre la remodelación ósea. El RAGE fue detectado en bajos niveles en las células multinucleadas generadas bajo condiciones basales (BSA). La incubación de osteoclastos maduros en presencia de AGEs indujo un incremento en la expresión de RAGE (50 % de aumento respecto de BSA no glicado). Hemos demostrado en el presente trabajo que los AGEs afectan la formación y diferenciación de osteoclastos "in vitro". Por otra parte, se ha demostrado previamente que los AGEs inhiben la proliferación y diferenciación osteoblásticas. Sabiendo que la osteoclastogénesis está íntimamente ligada a la diferenciación de osteoblastos, es tentador especular que los AGEs también podría inhibir la diferenciación osteoclástica de forma indirecta,

mediante la inhibición de la diferenciación de los osteoblastos y de su posterior expresión de RANKL.

Se ha planteado a la osteopatía diabética como una patología de origen adinámico, en la cual coexiste una disminución de la densidad mineral ósea con menor calidad del hueso, en este último caso por disminución del remodelado lo cual genera una acumulación de imperfecciones y mayor propensión a fracturas de bajo trauma. Los efectos de los AGEs que hemos descrito previamente –y en este trabajo– sobre células de hueso, contribuirían doblemente a la disminución del remodelado, ya que deprimirían simultáneamente la formación osteoblástica y la resorción osteoclástica.⁴

11. INTERFERENCIA DE LOS AGES CON EL ÓXIDO NÍTRICO

El óxido nítrico (ON) es una molécula gaseosa producida por el endotelio vascular a partir de la L-arginina, y que tiene una potente acción vasodilatadora, además de antiproliferativa y antiagregante plaquetaria. Posee una vida media in vivo muy corta y su síntesis es catalizada por la acción de la enzima ON-sintetiza, de la cual existen dos isoformas: la constitutiva, dependiente de calcio y poco productiva, y la inducible por endotoxinas y citoquinas, e independiente de calcio. Se ha demostrado que los PFGA ligados a proteínas y formados en la matriz vascular pueden reaccionar con el ON e inactivarlo; con ello ocasionan un defecto en la relajación vascular, lo que pudiera explicar, en parte, la disminución de la respuesta vasodilatadora que se observa en las arterias de los individuos con DM y la frecuente aparición de hipertensión arterial que se constata en estos sujetos. Asimismo, se ha comprobado que el defecto en la respuesta vasodilatadora mediada por el ON en la DM, se correlaciona con el nivel

acumulado de PFGA y puede evitarse mediante la inhibición de la formación de PFGA.^{12,22}

La acelerada inactivación del ON, como consecuencia de su interacción con los PFGA, conlleva al obligado incremento de la actividad de la ON-sintetiza, lo que aumenta la producción del anión superóxido, el cual interviene en la formación del compuesto prooxidante peroxinitrito. Este último compuesto es capaz de oxidar a las LDL e inactivar a la prostaciclina sintetiza, que provoca con ello, finalmente, disfunción endotelial. Debido a que el peroxinitrito es un compuesto difícil de determinar, se usa la medición de su derivado directo, nitrosamina, como indicador de su producción.²²

Por otra parte, en la DM está aumentada la actividad de la enzima aldosa reductasa, lo cual produce un gran consumo de NADPH y queda muy escasa cantidad de este disponible para poder ser utilizado por otras enzimas, como la glutatión peroxidasa que tiene actividad antioxidante, fenómeno que pudiera contribuir también al aumento del estrés oxidativo.²²

12. PREVENCIÓN DE LOS EFECTOS PERJUDICIALES DE LOS PRODUCTOS FINALES DE LA GLUCOSILACIÓN AVANZADA

Las estrategias farmacológicas para prevenir la formación de AGE están bajo investigación. Se basan en la inhibición de la formación de AGE, en la ruptura de los enlaces cruzados de AGE con otras moléculas o en impedir la interacción de AGE con su receptor. En diabetes experimental, diversos compuestos nucleofílicos pueden inhibir la formación de AGE: piridoxamina, tenilsetam, 2,3-diaminofenazona o aminoguanidina.¹⁴

Con el descubrimiento de la aminoguanidina, se abrió una nueva era en la prevención de las complicaciones crónicas de la diabetes mellitus. Este fármaco consiste en una molécula de bajo peso molecular y nucleofílica, que es capaz de inhibir el entrecruzamiento ocasionado por los PFGA entre las proteínas del plasma y el colágeno, así como el que se produce entre las cadenas polipeptídicas de una misma proteína entre sí. Posee una estructura similar a la alfa-hidroxihistidina, compuesto que disminuye la filtración vascular glomerular inducida por la diabetes, al mismo tiempo que ejerce un efecto reductor sobre los niveles de histamina. Los compuestos hidrazinnucleofílicos son capaces de interactuar con los grupos carbonilo de diversos compuestos biológicos como, la glucosa, el piridoxal (vitamina B6) y diversos cofactores, y presentan un grupo aminoterminal que tiene una mayor reactividad que los grupos amino de las proteínas del organismo, frente a los compuestos carbonílicos intermediarios de la reacción de glucosilación. La aminoguanidina reacciona fundamentalmente con intermediarios decarbonílicos no enlazados a proteínas y que forman parte de la primera etapa de la glucosilación, como la 3-desoxiglucosona, y bloquea así la secuencia reaccional que conduce a la formación de PFGA; por lo tanto, este fármaco puede prevenir la formación de productos proteicos y lipídicos glucosilados, interrumpiendo el círculo vicioso de la reacción glucosilativa-oxidativa.²⁹

Asimismo, se han realizado disímiles investigaciones con el objetivo de conocer el efecto específico de la aminoguanidina sobre cada una de las complicaciones tardías de la DM. En la retina, por ejemplo, se ha comprobado que evita la excesiva formación de PFGA en los microvasos retinianos, reduce la formación de capilares acelulares y de microaneurismas, y disminuye la pérdida de pericitos. Reduce la acumulación de AGE en el riñón y retarda el desarrollo de albuminuria y la proliferación mesangial.¹⁴ En relación con las complicaciones macrovasculares, se ha comprobado que la aminoguanidina inhibe la peroxidación lipídica in vivo y la captura por los macrófagos de las LDL oxidadas, además, puede reducir el desarrollo de placas ateroscleróticas sin alterar los niveles séricos de

colesterol, y aumentar la elasticidad de las grandes arterias y disminuir la extravasación a través de su pared.²⁹ Otros inhibidores de la glicación no enzimática de proteínas, ensayados in vitro, son pentoxifilina, pioglitazona y metformina. La pentoxifilina también se ha evaluado en un estudio con pacientes afectados de nefropatía diabética. Este compuesto tuvo un efecto protector del riñón, produjo una inhibición de las citoquinas proinflamatorias y de la inflamación y atenuó la progresión de la enfermedad¹⁴ Por último, dado que la glucosilación y la oxidación son dos fenómenos que están íntimamente relacionados, esto ha dado lugar a que algunos autores utilicen el término glucooxidación. Se ha propuesto el empleo de agentes quelantes capaces de inhibir la generación de radicales libres (EDTA, DETAPAC) y de antioxidantes, como el tocoferol (vitamina E), el ácido ascórbico (vitamina C) y la coenzima Q, para disminuir las nefastas consecuencias del fenómeno glucosilativo.²⁹ (Cuadro 1)

REPERCUSIONES CLÍNICAS POR GLICACIÓN DE PROTEÍNAS	
<i>Colágeno y elastina</i>	Engrosamiento cutáneo, mayor sequedad, descamación, pérdida de elasticidad, fuerza tensora, incremento de rigidez, limitación de movilidad articular.
Cristalino	Depósitos de pigmentos amarillos y fluorescentes en estructura ocular, opacificación, visión borrosa, formación de cataratas.
Mielina	Disminución del impulso nervioso, decrece el flujo sanguíneo dentro del nervio, disminución de sensibilidad.
Albúmina	Filtración glomerular. Descenso de la función renal, glomeruloesclerosis.
Hemoglobina	Menor oxigenación en tejidos, susceptibilidad a lesiones y deficiencia en la cicatrización
Fibrinógeno	Difusión vascular. Déficit en la coagulación
Lipoproteínas	Aterosclerosis, difusión endotelial

Fuente propia

CONCLUSIONES

La génesis de los AGEs ocurre mediante el proceso de glicación no enzimática entre proteínas y azúcares reductores. Sin embargo la glicación no enzimática puede afectar por sí misma no solo a proteínas sino también a lípidos y ADN del organismo.

Su acumulación conduce a modificaciones químicas de proteínas y otras macromoléculas, así como la formación progresiva e irreversible de enlaces cruzados intermoleculares causantes del daño tisular.

Los AGEs desencadenan también procesos intracelulares por unión con su RAGES específicos

El proceso de glicación de proteínas se ha asociado con mecanismos de desarrollo de diversas enfermedades y complicaciones de las mismas.

En la actualidad la terapéutica farmacológicas con agentes que inhiben AGEs constituye otra alternativa terapéutica para la prevención y solución de problemas de complicación crónicas.

En Odontología la presencia de AGEs en pacientes inmunocomprometidos como es el caso de la diabetes mellitus tiene repercusiones clínicas. Por la hiperglucemia existe más formación de AGEs e interacción de los mismos con los tejidos.

La apoptosis inducida por AGEs y RAGEs produce pérdida aumentada de fibroblastos y osteoblastos también se considera un factor patogénico en la patología periodontal, especialmente en la periodontitis crónica. Lo cual conlleva a la pérdida de piezas dentales en muchos casos, de manera irremediable.

Es fundamental para el cirujano dentista conocer tanto el manejo odontológico como los cambios metabólicos que van a la par con los cambios que se producen en los tejidos orales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bengmark S., Gil A.. Productos finales de la glicación y de la lipoxidación como amplificadores de la inflamación: papel de los alimentos. Nutr. Hosp. [revista en la Internet]. 2007 Dic [citado 2016 Feb 25] ; 22(6): 625-640. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112007000800001&lng=es.
2. Dr Alejandro Gugliucci. Glicación de proteínas: rol protagónico de la hiperglicemia en las complicaciones crónicas de la diabetes mellitus. [internet] Rev. Med. Uruguay 2005;16:58-75
3. Emilia N. Cohen Sabban. La glicosilación no enzimática; una vía común de la diabetes y el envejecimiento [internet] Med Cutan Lat Am 2011.39 (6). Disponible en <http://www.medigraphic.org.mx>
4. *Gangoiti María Virginia*, McCarthy Antonio Desmond, Cortizo Ana María Efectos de los productos de glicación avanzada (AGEs) y alendronato sobre el desarrollo osteoclastico: posibles mecanismos de acción, revista Argentina de Endocrinología y metabolismo [internet]2012*
5. Aponte Ramírez Liudmila, Ramírez Zayas Roger, Hernández González Silvia, Somontes Zamora Dariel. Los procesos de glucosilación no enzimática. AMC [Internet]. 2009 Dic [citado 2016 Mar 17] ; 13(6): . Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552009000600020&lng=es
6. Díaz-Flores Margarita, Baiza-Gutman Luis Arturo, Ibáñez-Hernández Miguel Ángel, Pascoe-Lira Dalila, Guzmán-Greenfel Alberto M, Kumate-Rodríguez Jesús. Aspectos moleculares del daño tisular inducido por la hiperglucemia crónica. Gac. Méd. Méx [revista en la Internet]. 2004 Ago [citado 2016 Feb 25] ; 140(4): 437-447. Disponible en:

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0016-38132004000400014&lng=es

7. Jose D. Méndez. Productos finales de glicación avanzada y complicaciones crónicas de la diabetes mellitus. Gac. Med Méx.[internet] 2006. Disponible [http:// www.medigraphic.org.mx](http://www.medigraphic.org.mx)
8. *Marcela Fuentes^{1,a}, Pablo Olmos¹ y José Luis Santos Productos finales de glicación avanzada (AGEs) y su importancia en enfermedades crónicas relacionadas con la nutrición. Rev chil.endocrinol.diabetes [internet] 2015;8(2)*
9. Fajardo,A.;Gutiérrez,S.(2012).Hemoglobina Glicosilada como elemento pronóstico en la complicaciones macrovasculares de la Diabetes Mellitus.[En línea].Rev.Enfermería Actual en Costa Rica,22,1---9 Disponible World World Wide Web: <<http://www.revenf.ucr.ac.cr/hemoglobina.pdf>>ISSN 1409---4568
- 10.Olmos Pablo, Araya-Del-Pino Andrea, González Cristián, Laso Pablo, Iribarra Verónica, Rubio Lorena. Fisiopatología de la retinopatía y nefropatía diabéticas. Rev. méd. Chile [Internet]. 2009 Oct [citado 2016 Feb 25] ; 137(10): 1375-1384. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872009001000015&lng=es. <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872009001000015>
- 11.Cruz Hernández Jeddú, Licea Puig Manuel Emiliano. Glucosilación no enzimática y complicaciones crónicas de la diabetes mellitus. Rev Cubana Endocrinol [revista en la Internet]. 2010 Ago [citado 2016 Feb 25] ; 21(2): 223-255. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-29532010000200008&lng=es
- 12.Juan Muntaner, Rubén Roggia, Juan José Badimon¹. Diabetes y aterotrombosis. Importante impacto en la carga global de morbilidad.

Mecanismos fisiopatológicos involucrados *Rev Fed Arg Cardiol.* 2015; 44(3): 133-138 [internet] disponible en www.revistafac.org.ar

13. Sergio Raposeiras-Roubín Bruno K. Rodiño-Janeiro Lilian Grigorian-Shamagian María Moure-González. Ana Seoane-Blanco Alfonso Varela-Román, Ezequiel Álvarez y José R. González-Juanatey Productos de glicación avanzada: nuevo marcador de disfunción renal en pacientes con insuficiencia cardíaca crónica *Med Clin (Barc).* 2011;136(12):513–521[internet] disponible en www.elsevier.es/medicinaclinica.
14. Sonia Morales a,b, José A. García-Salcedo a,b y Manuel Muñoz-Torres Pentosidina: un nuevo biomarcador de las complicaciones en la diabetes mellitus *Med Clin (Barc).* 2011;136(7):298–302 [internet] disponible en www.elsevier.es/medicinaclinica.
15. Alba Naudí, Mariona Jové, Victoria Ayala, Manuel Portero-Otín y Reinald Pamplona Glicación de proteínas mitocondriales, estrés oxidativo y envejecimiento *Rev Esp Geriatr Gerontol.* 2010;45(3):156–166 [internet] Disponible en www.elsevier.es/regg.
16. María del Carmen Jiménez Martínez Hugo Trejo Márquez Adrián Herrera Sánchez José Luis Romero Ibarra Raúl Chávez Ricardo Lascurain Edgar Zenteno. Alteraciones de la glicosilación en enfermedades humanas. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex* Volumen 15 - número 1 Enero - marzo 2005 Págs. 39-47 [internet] disponible en [http:// www.medigraphic.org.mx](http://www.medigraphic.org.mx)
17. Pérez González Henry, García Concha Yanet, Zozaya Aldana Beatriz, Corrales Negrín Yusleydi. Comportamiento clínico-epidemiológico de la catarata senil en Gran Caracas. *Rev Cubana Oftalmol* [Internet]. 2011 Jun [citado 2016 Abr 06]; 24(1): 55-63. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21762011000100006&lng=es.

18. M. Carmen Iglesias-de la Cruz, Sheldon Chen, Fuad N. Ziyadeh y Miguel A. Pancorbo-Alonso. Patogénesis de la nefropatía diabética. *Ciencia al Día Internacional* © Abril 2003, Vol. 5, No. 1. ISSN 0717-3849 <http://www.ciencia.cl/CienciaAlDia/volumen5/numero1/articulos/articulo1.html>
19. León-Regal M, González-Otero L, González-Otero Z, de-Armas-García J, Urquiza-Hurtado A, Rodríguez-Caña G. Etiopatogenia de la microangiopatía diabética. Consideraciones bioquímicas y moleculares. **Revista Finlay** [revista en Internet]. 2013 [citado 2016 Feb 25]; 3(4):[aprox. 13 p.]. Disponible en: <http://www.revfinlay.sld.cu/index.php/finlay/article/view/242>
20. Olmos Pablo R, Niklitschek Sergio, Olmos Roberto I, Faúndez Jorge I, Quezada Thomas A, Bozinovic Milan A et al . Bases fisiopatológicas para una clasificación de la neuropatía diabética. *Rev. méd. Chile* [Internet]. 2012 Dic [citado 2016 Mar 02] ; 140(12): 1593-1605. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872012001200012&lng=es. <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872012001200012>
21. José Víctor Calderón Salinas, Elvia Guadalupe Muñoz Reyes ,Martha Angélica Quintanar Escorza ESTRÉS OXIDATIVO Y DIABETES MELLITUS* *REB* 32(2): 53-66, 2013 [internet]
22. Hans Drenth , Sytse Zuidema , Steven Bunt¹, Ivan Bautmans, Cees van der Schans and Hans Hobbelen The Contribution of Advanced Glycation End product (AGE) accumulation to the decline in motor function.[internet] Drenth et al. *European Review of Aging and Physical Activity* (2016) 13:3 DOI 10.1186/s11556-016-0163-
23. James P. Chowa, Dan T. Simionescua, Harleigh Warnera, Bo Wangb, Sourav S. Patnaikb, Jun Liaob, and Agneta Simionescua Mitigation of Diabetes-Related Complications in Implanted Collagen and Elastin

Scaffolds Using Matrix-Binding Polyphenol Biomaterials. 2013 January ; 34(3): 685–695.

24. Tagle Rodrigo, González Fernando, Acevedo Mónica. Microalbuminuria y excreción urinaria de albúmina en la práctica clínica. Rev. méd. Chile [Internet]. 2012 Jun [citado 2016 Mar 02] ; 140(6): 797-805. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872012000600016&lng=es. <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872012000600016>.
25. F. Luis González Flecha, Pablo R. Castello, , Juan J. Gagliardino, Juan Pablo F.C. Rossi. 2000 La glucosilación no enzimática de proteínas. Mecanismo y papel de la reacción en la diabetes y el envejecimiento [INTERNET] Ciencia al Día Internacional © Junio 2000, Vol. 3, No. 2. ISSN 0717-3849 disponible en http://www.ciencia.cl/CienciaAlDia/volumen3/numero2/articulos/articulo_2.html.
26. Isidoro González-Maquedaa La enfermedad coronaria del diabético. Diagnóstico, pronóstico y tratamiento Rev Esp Cardiol Supl. 2007;7(H):29-41 - Vol. 7 Núm. Supl.H.
27. http://www.icronline.com/page/biblio_virtual/id/4/title/LA-ATEROESCLEROSIS
28. [https://journalmex.wordpress.com/2009/09/27/amputaciones-por-neuropatia-diabetica/de René Dávila](https://journalmex.wordpress.com/2009/09/27/amputaciones-por-neuropatia-diabetica/de-René-Dávila) | septiembre 27, 2009 · 11:44 am
29. Jeddú Cruz Hernández¹; Manuel Emiliano Licea Puig^{II} Glucosilación no enzimática y complicaciones crónicas de la diabetes mellitus Non-enzymatic glycosylation and chronic complications of diabetes mellitus [Revista de la internet] vol21_2_10/end08210 disponible en <http://www.bvs.sld.cu/revistas/endhtm>.