

### Los procesos de glucosilación no enzimática

### The nonenzymatic glycosylation processes

**Dra. Liudmila Aponte Ramírez<sup>I</sup>; Dr. Roger Ramírez Zayas<sup>II</sup>; Dra. Silvia Hernández González<sup>III</sup>; Dr. Daríel Somontes Zamora<sup>IV</sup>**

<sup>I</sup> Especialista de I Grado en Bioquímica Clínica. Profesor Instructor. Universidad de Ciencias Médicas "Carlos J. Fialy". Camagüey, Cuba.

<sup>II</sup> Especialista de II Grado en Bioquímica Clínica. Profesor Titular.

<sup>III</sup> Especialista de II Grado en Bioquímica Clínica. Profesor Auxiliar.

<sup>IV</sup> Especialista de I Grado en Bioquímica Clínica. Profesor Instructor.

### Resumen

Se realizó una revisión bibliográfica con el objetivo de actualizar los conocimientos sobre el proceso de glucosilación no enzimática. Su importancia fisiológica se puso de manifiesto a partir del hallazgo de que parte de la hemoglobina en la sangre de individuos sanos está glucosilada y que el nivel de glucosilación es mayor en pacientes diabéticos. La colágeno fue la primer proteína donde se demostró la existencia de enlaces intermoleculares covalentes producidos por este mecanismo en la base molecular de la glomerulopatía y retinopatía diabética. La disminución de la actividad biológica como consecuencia de la glucosilación aparece en un reducido número de pacientes, incluyendo varios sistemas enzimáticos donde grupos amino participaron en la catálisis enzimática. La activación de receptores por la unión de proteínas con los productos de glucosilación avanzada estimula la producción en macrófagos, células endoteliales y mesangiales de factores de crecimiento y mecanismos procoagulantes que favorecen la formación de trombos en los sitios de acumulación extracelular de estos compuestos, la oclusión de vasos, hipoxia y necrosis tisular. Las reacciones en las que intervienen radicales libres, participan en la formación de los

productos de glucosilación avanzada provocando su unión de manera covalente e irreversible a las proteínas favoreciendo la aterosclerosis. En la Diabetes la hemoglobina glucosilada y la fructosamina son las determinaciones de laboratorio más frecuentes utilizadas en el control metabólico y su estabilidad, que permite prevenir los efectos nocivos de la hiperglucemia.

**Palabras clave:** glucosilación, conducta alimentaria/ fisiología, hiperglucemia/ metabolismo

## **ABSTRACT**

A bibliographical revision with the objective to bring-up-to date the knowledge on the nonenzymatic glycosylation process was carried out. Its physiologic importance was shown, starting from the discovery that a part of the hemoglobin in blood of healthy individuals is glycosylated and the glycosylation level is bigger in diabetic patients. The collagen was the first protein where the existence of covalent intermolecular bonds was demonstrated produced by this mechanism in the molecular basis of the glomerulopathy and diabetic retinopathy. The decrease of the biological activity as consequence of glycosylation appears in a reduced number of patients, including several enzymatic systems where amino groups participated in the enzymatic catalysis. The receptors' activation for proteins union with products of advanced glycosylation stimulates the production in macrophages, endothelial and mesangial cells of growth factors and procoagulant mechanisms that favor the thrombus formation in the places of extracellular accumulation of these compounds, the occlusion of vessels, hypoxia and tissular necrosis. Reactions in which intervene free radicals, participate in the formation of the advanced glycosylation products causing its union in covalent and irreversible way to the proteins favoring atherosclerosis. In diabetes the glycosylated hemoglobin and the fructosemia are the most frequent laboratory determinations used in the metabolic control and its stability allow us to prevent the noxious effects of hyperglycemia.

**Key words:** glycosylation, feeding behavior /physiology, hyperglycemia/ metabolism

## **INTRODUCCIÓN**

Cuando cocinamos no reflexionamos demasiado acerca de lo complejas que resultan las operaciones culinarias desde el punto de vista químico. Nuestra condición humana requiere alimentarnos con productos que además de nutrirnos, sorprendan nuestros sentidos y nos satisfagan espiritualmente. Para el idioma castellano "gusto" y "sabor" son palabras con significados muy similares. En un contexto más restringido y a los fines de emplear con mayor precisión ambos términos, se puede manifestar que el sentido del "gusto" posee receptores localizados en la boca. Sin embargo el sabor es un concepto que involucra mayor

grado de elaboración intelectual, es decir, es el conjunto de sensaciones relacionadas también con el olfato y la memoria.

Tradicionalmente, al menos en la cultura occidental, se distinguen varios tipos de gustos: amargo, ácido o agrio, dulce y salado. Hay un quinto tipo no identificado por la mayoría de las personas. Éste no identificado fue descrito en 1908 por el profesor *Ikeda* de la Universidad Imperial de Tokio. Es común a la mezcla de carne con queso y tomate, que denominó *umami*, cuya traducción aproximada sería "sabroso". Luego se descubrió en 1920 que las mezclas de atún producían el mismo sabor. En el año 2001 el *Dr. Charles Zuker* de la Universidad de la California sentó las bases moleculares al identificar la existencia de un receptor para *umami* y concluyó "que así como el dulce incita a consumir azúcares, el *umami* induce a consumir alimentos de alto contenido de proteínas." <sup>1</sup>

La industria culinaria explotó al máximo la obtención de compuestos que desencadenan este sabor. Por lo general están asociados a un color dorado en los mismos como las carnes asadas sumergidas en vegetales y cebollas o trozos de carnes enharinadas o rellenas con queso, tal vez el flan, el pudín, los dulces de leche y tantas combinaciones de galletas rellenas con las más variadas clases de cremas, todos ellos "inolvidables al paladar"

La combinación de azúcares con las demás biomoléculas fue estudiada a principios del siglo XX por *Louis Camille Maillard*, químico francés que en 1912 estudiaba la pérdida de lisina (aminoácido esencial) en los alimentos conservados ricos en proteínas y glúcidos; enunció las bases moleculares de estas reacciones que luego tomaron su nombre. La importancia de su contribución es el postulado de que también se producían a nivel biológico, es decir, no ocurren sólo en la cocina sino que se llevan a cabo espontáneamente en el organismo.<sup>2</sup>

Por más de 50 años, el avance en la comprensión del mecanismo químico de la glucosilación estuvo estrictamente vinculado con la ciencia y la tecnología alimentaria. Su importancia fisiológica se puso de manifiesto a partir del descubrimiento de que parte de la hemoglobina en la sangre de individuos sanos esta glucosilada y de que el nivel de glucosilación es mayor en pacientes diabéticos.

La Diabetes Mellitus es una enfermedad crónica de elevada incidencia y prevalencia al nivel mundial. En Cuba el número de enfermos ha crecido notablemente en los últimos años manteniéndose entre las primeras 10 causas de muerte desde 1970.<sup>3</sup> Esta enfermedad es particularmente conocida por su hiperglucemia crónica, la cual es considerada como el agente causal de las complicaciones microvasculares y macrovasculares en estas pacientes.<sup>4</sup> Además está muy relacionada con el riesgo de padecer infarto de miocardio<sup>5</sup> y otras

manifestaciones tardías de la enfermedad como neuropatías, nefropatías, entre otras. Los mecanismos moleculares propuestos para explicar los daños causados por la hiperglucemia crónica son varios y dependen en gran medida de los órganos y tejidos que se analicen. Algunos autores hasta el momento indican entre otros la acumulación de *Productos de Glucosilación Avanzada* (PGA; en inglés AGE; *Advanced Glycation End-Products*).<sup>6</sup>

Las reacciones de Maillard no atrajeron la atención de los médicos e investigadores hasta la década del 70 e implica no sólo a los azúcares y a las proteínas, pueden glucosilarse los lípidos y el ADN. Hoy se conocen un sinnúmero de enfermedades cuyas bases moleculares tienen como punto de partida los procesos de glucosilación no enzimática, incluso la acumulación de productos derivados dentro de la célula y afectar estructuras tan importantes como el núcleo.<sup>7</sup>

## DESARROLLO

Desde el punto de vista químico, la glucosilación se define como la reacción de grupos amino primarios de aminoácidos, péptidos y proteínas con el grupo carbonilo de los azúcares reductores. A lo largo de esta reacción se pueden distinguir tres etapas: inicialmente se produce la asociación del azúcar con la proteína, formando un compuesto denominado base de Schiff. [Figura 1](#)

La estructura se reordena hacia una forma más estable, denominada producto de Amadori. Éste posteriormente sufre una serie de complejas transformaciones que conducen a la formación de compuestos generalmente coloreados y/o fluorescentes.

En condiciones fisiológicas la aparición de estos compuestos está determinada por la concentración de azúcares reductores y por el tiempo de exposición de la proteína a los mismos (vida media de la proteína). En proteínas de recambio rápido, el proceso de glucosilación no enzimática no supera, en general, las etapas iniciales (formación de la base de Schiff y eventualmente del producto de Amadori), mientras que las de vida media larga llegan a formar los productos de glucosilación avanzada.<sup>8</sup>

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 conlleva a que 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. Se sabe que la forma abierta o extendida de los azúcares no es muy estable, a tal punto que, por ejemplo, en la glucosa representa sólo el 0.002%. De hecho, los azúcares fosfato, que

son azúcares reductores de gran importancia en el interior celular, poseen mayor capacidad glucosilante que la glucosa dada su mayor proporción de forma carbonílica (abierta).

Los aminoácidos, unidad estructural de las proteínas, 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 guanidino 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 guanidino de los residuos de arginina.

Por otro lado, no todos los grupos capaces de reaccionar con el grupo carbonilo de los azúcares lo hacen, ya que pueden estar ocultos en la estructura tridimensional de la proteína de modo que las moléculas de los azúcares no tienen acceso a ellos. El sitio de la proteína donde se encuentra cada grupo determina localmente su basicidad, esto es, su capacidad para reaccionar a través de su par de electrones libres. Cuanto más básico es un grupo amino más fácilmente reaccionará con el grupo carbonilo de los azúcares. Ambos factores, la accesibilidad y la basicidad, determinan que cuando una proteína reacciona con un azúcar, sólo algunas de las cadenas laterales de sus residuos de lisina y arginina participarán directamente en la reacción.<sup>9</sup>

### **Etapas reversibles del proceso de glucosilación**

La base de Schiff inicialmente formada cuando reacciona un azúcar reductor con una proteína resulta de la adición del grupo amino de la proteína al grupo carbonilo del azúcar. Esta molécula es estable por un corto tiempo, luego del cual se inicia un proceso de reordenamiento de los enlaces químicos, que da lugar a un producto más estable denominado genéricamente producto de Amadori. El hecho de que ambas reacciones sean reversibles y consecutivas determina que de acuerdo al tiempo de evolución del sistema, habrá predominio de la base de Schiff (horas) o del producto de Amadori (días). La interrupción del contacto de la glucosa con la proteína en cualquiera de estas etapas produce la reversión completa del efecto.

### **Formación de productos de glucosilación avanzada**

Los productos de Amadori poseen un grupo carbonilo que puede seguir reaccionando con otros grupos amino. Durante esta etapa se forman también compuestos altamente reactivos que poseen dos grupos carbonilo y que actúan como propagadores de la reacción. Luego de varios meses o inclusive años de contacto con la glucosa, las proteínas de bajo recambio (vida media larga), como por ejemplo el colágeno, originan los productos de glucosilación avanzada. 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 "PGA" es un proceso lento e irreversible.<sup>9</sup> Estos son capaces de producir agregación de proteínas y se ha demostrado que exhiben diversas actividades biológicas deletéreas. Las proteínas modificadas por los PGA pueden encontrarse en el plasma, en el compartimiento intracelular así como en la matriz extracelular.<sup>10</sup>

### **La presencia de PGA en la matriz extracelular (MEC) y su efecto en las proteínas**

El colágeno fue la primera de dichas proteínas en las que se demostró la existencia de enlaces intermoleculares covalentes producidos por los PGA. En el colágeno tipo I, la agregación molecular resultante induce una distorsión del edificio molecular de la fibrilla. El estrechamiento luminal, una característica importante en los vasos diabéticos, puede deberse en parte a la acumulación en el subendotelio de proteínas del plasma tales como albúmina, lipoproteína de baja densidad (LDL) e inmunoglobulina G (IgG). Estas proteínas pueden quedar atrapadas por los PGA en el colágeno de las membranas basales por agregación covalente. Por otra parte, la formación de PGA en el colágeno de tipo IV, de la membrana basal dificulta la asociación lateral de estas moléculas en una estructura tridimensional sutil y compleja y tiende a la reticulación de las fibras en forma anárquica, todo lo cual redundo en aumentos de permeabilidad.<sup>11-3</sup>

Las características principales de la glomerulopatía diabética son: la proteinuria, la expansión mesangial y la esclerosis focal. La formación de PGA en la laminina (una proteína estructural dominante de la MEC), causa también trastornos en el autoensamblaje de la membrana basal glomerular (MBG), lo cual compromete la integración en esta superestructura de los otros componentes principales del andamiaje molecular que la componen. El colágeno tipo IV y los proteoglicanos tales como el Heparán Sulfato, es precisamente la molécula clave que proporciona la carga negativa de la MBG. Su pérdida es el factor dominante que facilita el filtrado de las proteínas del plasma y la proteinuria resultante.<sup>14</sup> Estas alteraciones inducidas por los PGA en la matriz extracelular de la

microcirculación renal <sup>15</sup> no se ven restringidas solamente a estos capilares, sino que estarían implicadas además en los trastornos a nivel del capilar retiniano.<sup>16</sup> Incluso se cree que dichos trastornos estarían vinculados indirectamente con la pérdida de los pericitos en esos vasos, que da sello anatómico a la retinopatía diabética.<sup>17</sup>

Hasta ahora, la disminución de la actividad biológica como consecuencia directa de la glucosilación se ha observado en un reducido número de casos, incluyendo varios sistemas enzimáticos donde grupos amino participan en el proceso de catálisis. En este grupo se puede mencionar a la Calmodulina, la Superóxido Dismutasa y la bomba de calcio en eritrocitos humanos. En algunos sistemas enzimáticos, como por ejemplo la Aldolasa Reductasa, se ha visto que, por el contrario, la glucosilación produce un aumento de su actividad. Estas modificaciones de la actividad enzimática pueden dar lugar, *in vivo*, a alteraciones de los procesos celulares en los que participa cada enzima, por ejemplo la bomba de calcio, que interviene en la regulación de la concentración de Ca<sup>2+</sup> en el interior de las células. Las variaciones en dicha concentración, inducidas por diversos estímulos, están involucradas en los procesos de contracción muscular, expresión génica, diferenciación celular, secreción, y varias funciones neuronales. La inactivación parcial de esta enzima, producto de la glucosilación no enzimática, podría provocar alteraciones en estos importantes procesos. Por otra parte, la Calmodulina ha sido reconocida como el principal mediador de los estímulos regulados por Ca<sup>2+</sup> y su alteración traería graves consecuencias al normal funcionamiento de las células. Por otro lado, la Superóxido Dismutasa que desempeña un papel fundamental en los mecanismos de defensa del organismo frente a los radicales libres de oxígeno, al inhibirse por glucosilación podría incrementar el efecto nocivo de los radicales libres. <sup>2</sup>

### **Efectos mediados por receptores**

Los receptores de PGA han sido descritos en numerosas células. La lista creciente de los receptores capaces de ligar los PGA incluye: los receptores "scavenger" I y II; el receptor de PGA (R-PGA); el Oligosacaril Transferasa-48; la Fosfoproteína 80K-H y la Galectina-3. Los receptores de PGA se encuentran en monocitos, macrófagos, células endoteliales, células mesangiales, pericitos, astrocitos y microglía.

Activación del receptor PGA en macrófagos, células endoteliales y mesangiales.<sup>18, 19</sup>

Las proteínas PGA que se ligan a estos receptores estimulan la producción por los macrófagos de la Interleuquina-1, Factor de Crecimiento I, Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF-alfa) y Factor Estimulante de Colonias de Granulocitos. 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 PGA 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 PGA 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 PGA y la oclusión de los vasos, hipoxia y necrosis tisular.<sup>20-2</sup>

### **Los PGA afectan también las proteínas dentro de la célula**

Durante varios años se pensó que los productos de glucosilación avanzada se formaban solamente en las macromoléculas extracelulares de larga vida media. Dado que la tasa de formación de PGA por la glucosa es lenta (Las proteínas intracelulares tienen una velocidad de recambio que se mide en minutos u horas), no existiría el tiempo suficiente como para acumular PGA. Más recientemente se ha demostrado que los PGA se forman también en las proteínas de la célula in vivo.

Existe una acumulación rápida de PGA en las Histonas de los hepatocitos. Las Histonas son proteínas básicas que constituyen el 50% de la masa del cromosoma y juegan un rol importante en el funcionamiento del gen. Esto refuerza el concepto de que la glucosilación avanzada ocurre realmente en las proteínas intracelulares. Resultados análogos fueron encontrados por otros autores en cultivos de células beta de los Islotes de Langerhans, que comparten con los hepatocitos el mismo transportador de glucosa (GLUT II), que no depende de la Insulina. Esta glucosilación intracelular refleja probablemente los aumentos inducidos por la hiperglucemia en metabolitos intermediarios intracelulares (por ejemplo, Glucosa-6-fosfato, Gliceraldehído-3-fosfato), que son mucho más reactivos que la Glucosa. Finalmente, otro ejemplo de glucosilación avanzada intracelular que merece ser destacado ocurre en los eritrocitos. Aparte de la HbA1c, los eritrocitos también contienen la hemoglobina-PGA que representa 0.24% de la hemoglobina total en sujetos normales y es tres veces mayor en los diabéticos.<sup>2, 24</sup>

Recientemente la evidencia experimental sugiere que la glucosilación y el estrés oxidativo se pueden vincular a la vía del Sorbitol potenciándose y contribuyendo así al desarrollo de complicaciones diabéticas. Debe ser señalado que la Fructosa producida por la vía del Sorbitol es extremadamente potente como agente de glucosilación, superando ampliamente a la Glucosa.<sup>25</sup>



### **Glucosilación de las lipoproteínas y su papel en la génesis de la aterosclerosis**

Los pacientes diabéticos, y por tanto con cifras de glucemias superiores a la normal, presentan alteraciones cuantitativas y cualitativas en sus lipoproteínas que supone una modificación en su comportamiento metabólico y con ello en la génesis de la placa de ateroma.<sup>26</sup>

Es conocido que un aumento de los niveles de Glucosa mantenido en el tiempo produce la glucosilación no enzimática de proteínas circulantes (en esto está basado la determinación de Hb glucosilada como medida de control del tratamiento en el diabético), fenómeno que también afecta a las apoproteínas de las lipoproteínas. En las estructuras lipoproteicas, este fenómeno de glucosilación no enzimática también se puede producir sobre su porción fosfolipídica.<sup>27</sup>

El proceso se produce en dos etapas:

- Inicialmente se forman la unión reversible del grupo aldehído de la Glucosa con los mencionados grupos amino libres dando lugar a una base de Schiff y a continuación se origina una reordenación en la molécula que produce fructosaminas por transformación del resto glucosil a fructosil (compuestos de Amadori). Un fenómeno análogo se produce en los fosfolípidos de las lipoproteínas.
- Como segundo paso se producen los productos de glucosilación avanzada que afectan a proteínas de vida media larga como el Colágeno pero que también afecta a las de vida media corta como las apoproteínas.

La formación de PGA incluye reacciones de deshidratación, condensación cíclica, entrecruzamientos intermoleculares y oxidación por radicales libres del oxígeno, lo que en el caso de las lipoproteínas afecta aún más por la presencia de ácidos grasos poliinsaturados de fácil oxidación dando lugar a lipoproteínas glucosiladas, oxidadas y gluco-oxidadas que son especialmente aterogénicas.<sup>26-8</sup>

Una porción de LDL modificada que coexiste con la LDL nativa se caracteriza por presentar varias alteraciones en sus propiedades:

- Un mayor grado de glucosilación (la cantidad de restos de fructosil-lisina es 1.3-1.7 veces mayor que para las LDL nativas)
- Un contenido en ácido siálico disminuido entre 25-60%.
- Conforme a las medidas de diámetro y densidad está constituida por partículas pequeñas y densas y éstas tienen una carga neta superficial más electronegativa.

Otro mecanismo inherente a la Diabetes, que también modifica cualitativamente a las lipoproteínas es la auto-oxidación de la Glucosa o de productos de glucosilación temprana,

pues genera compuestos carbonílicos y radicales libres del Oxígeno (superóxido e hidroxilo) y Peróxido de Hidrógeno que pueden producir daño oxidativo. La hipótesis de la gluco-oxidación propone que el estrés oxidativo concomitante a la glucosilación tiene un rol importante en la etapa de la glucosilación avanzada de las proteínas. Las reacciones en las que intervienen radicales libres participan en la formación de los PGA, también llamados productos de gluco-oxidación para enfatizar su origen dual. Los mismos quedan unidos de manera covalente e irreversible a las proteínas. La glucosilación de las apoproteínas y de diferentes enzimas asociados a su metabolismo, como la Lecitin Colesterol Acil Transferasa (LCAT), parece que también modifican su comportamiento en la misma dirección de facilitar el fenómeno aterosclerótico.<sup>25, 29</sup>

## **Determinaciones bioquímicas con bases en la glucosilación**

### **La Hemoglobina Glucosilada (Hb A1c)**

Actualmente, el control metabólico no se valora solamente por el control glucémico, sino que hay otra serie de parámetros, como las denominadas proteínas glucosiladas, entre las que destaca la Hemoglobina Glucosilada (Hb A 1c), que indican fielmente el grado de control que, a largo plazo, ha mantenido el diabético.

En cuanto al control de la Diabetes, la determinación de algunas de estas proteínas nos va a servir para valorar mejor el control metabólico y conseguir una mejora de éste que nos lleve, a la larga, a prevenir los efectos nocivos de la hiperglucemia.

Dentro de las proteínas glucosiladas que se pueden determinar en el laboratorio nos vamos a referir a las dos que se utilizan más, y que son la Hemoglobina Glucosilada (Hb A 1c) y la Fructosamina.

La hemoglobina glucosilada es una fracción de la hemoglobina A normal del adulto, que tiene la propiedad de unir, de forma irreversible, cantidades de Glucosa proporcionales a la concentración glucémica. Al conjunto de todas ellas se les denomina Hemoglobina A 1 o "Hemoglobina glucosilada", pero, a su vez, dentro de la Hemoglobina A 1 se pueden separar varias fracciones, que se diferencian por los diferentes azúcares a los que van unidos, siendo la de mayor interés y la que se encuentra en un porcentaje más elevado la Hb A 1c, que es la que se encuentra unida a la Glucosa.<sup>24</sup>

Entre los factores que condicionan la intensidad de la glucosilación se destacan:

- La concentración (cantidad) de Glucosa sanguínea.
- El tiempo durante el que se mantiene esa cantidad de Glucosa.
- La vida media (tiempo que tarda en destruirse) de la proteína glucosilada.

En el caso de la Hemoglobina, y teniendo en cuenta que la vida media del glóbulo rojo es aproximadamente de 120 días, su determinación nos servirá para evaluar el control de las

cifras medias de Glucosa en sangre que ha mantenido un diabético durante los 2 a 3 meses precedentes a la realización del análisis.

### **Falsos descensos de la Hb A 1c**

Se pueden presentar en aquellos trastornos y situaciones en los que se altera la vida media de los glóbulos rojos, como en el caso del embarazo, en algunos tipos de anemias y de transfusiones recientes.

### **Inhibidores de la glucosilación no enzimática**

Los esfuerzos actuales en la investigación de los procesos de glucosilación no enzimática están dedicados a la búsqueda de procedimientos que permitan revertir 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.

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 (producto de Amadori y compuestos dicarbonílicos) que se formaron durante las primeras etapas de la glucosilación. En este sentido se han ensayado derivados de la Hidrazina, que tienen mayor reactividad que los grupos amino frente a los compuestos carbonílicos; de ellos el que produjo un mejor resultado fue la Aminoguanidina. [Figura 2](#)

La Aminoguanidina *in vitro* inhibe la formación de productos de glucosilación avanzada en el colágeno, y su administración a ratas diabéticas inhibe la acumulación de productos de glucosilación avanzada y el entrecruzamiento en el tejido conectivo de la pared arterial. 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. Recientemente se han descrito nuevas moléculas capaces de bloquear la conversión de los productos de Amadori en "PGA", entre las cuales se encuentran las denominadas genéricamente amadorinas. Los estudios realizados hasta el presente muestran que la inhibición se produce a través de un mecanismo diferente al descrito para la

Aminoguanidina. La más potente de estas sustancias es un análogo de la Vitamina B6, la Piridonina. Los resultados obtenidos indican que la aplicación de esta molécula podría ser efectiva en el tratamiento y prevención de las complicaciones que presentan las personas diabéticas.<sup>30</sup>

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zhao GQ, Zhang Y, Hoon MA, et al. The receptors for mammalian sweet and umami taste. *Cell* 2003; 115:255-66.
2. Rossi JPFC. La combinación de los azúcares con las biomoléculas desde la cocina hasta el organismo. *Medicina (Buenos Aires)* 2007; 67:167-176.
3. González FL, Castello PR, Gagliardino JJ, JP Rossi. La glucosilación no enzimática de proteínas. Mecanismo y papel de la reacción en la diabetes y el envejecimiento. 2000 [en línea]. Dirección Nacional de Estadísticas y Centro Nacional de Información Médica. Anuario Estadístico de Salud en Cuba año 2003 [en línea] Disponible en: <http://www.sld.cu/servicios/estadisticas/>
4. Triana ME. La hiperglicemia y sus efectos tóxicos. Un concepto patogénico para la micro y macroangiopatía diabética. *Rev Cubana Angiol Cir Vasc* 2001; 2(2):131-41.
5. Ceriello A, Hanefeld M, Leiter L, Monnier I, Moses A, Owens D, et al. Postprandial glucose regulation and diabetic complications. *Arch Intern Med* 2004; 164(19):2090-5.
6. Díaz M, Baiza LA, Ibáñez MA, Pascoe D, Guzmán AM, Kumate J. Aspectos moleculares del daño tisular inducido por la hiperglucemia crónica. *Gac Med Mex* 2004; 140(4):437-47.
7. Levi V, Villamil AM, Castello PR, Rossi JPFC, González FL. Effects of phosphatidylethanolamine glycation on lipid-protein interaction and membrane protein thermal stability, *Biochim Biophys Acta* 2006.
8. González FL, Gagliardino JJ, Castello PR, Rossi JPFC. La glicosilación no enzimática de las proteínas. Mecanismo y papel de la reacción en la Diabetes y el envejecimiento. *Ciencia al Día Internacional*, <http://www.ciencia.cl/CienciaAIDiavolumen3/número2/articulos/index.html>, 2000
9. Horvat S, Jakas. A Peptide and amino acid glycation: new insights into the Maillard reaction. *Journal of Peptide Science*, Volume 10, Issue 3 , Date: March 2004, p. 119 – 137

10. Burns WC, Twigg SM, Forbes JM, Pete J, Tikellis C, Thallas-Bonke V, et al. Connective Tissue Growth Factor Plays an Important Role in Advanced Glycation End Product-Induced Tubular Epithelial-to-Mesenchymal Transition: Implications for Diabetic Renal Disease *J. Am. Soc. Nephrol.*, September 1, 2006; 17(9): 2484 - 2494.
11. Aronson D. Potential role of advanced glycosylation end products in promoting restenosis in diabetes and renal failure. *Medical Hypotheses* , Volume 59, Issue 3, Pages 297 - 301
12. Roestenberg P, van Nieuwenhoven FA, Joles JA, Trischberger C, Martens PP, Oliver N, et al. Goldschmeding. Temporal expression profile and distribution pattern indicate a role of connective tissue growth factor (CTGF/CCN-2) in diabetic nephropathy in mice *Am J Physiol Renal Physiol*, June 1, 2006; 290(6): F1344 - F1354.
13. Lam S, RN van der Geest, Verhagen NAM, Daha MR, van Kooten C. Secretion of collagen type IV by human renal fibroblasts is increased by high glucose via a TGF- $\beta$ -independent pathway *Nephrol. Dial. Transplant.* July 1, 2004; 19(7): 1694 - 1701.
14. McLennan SV, Wang XY, Moreno V, Yue DK, Twigg SM. Connective Tissue Growth Factor Mediates High Glucose Effects on Matrix Degradation through Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase Type 1: Implications for Diabetic Nephropathy *Endocrinology*, December 1, 2004; 145(12): 5646 - 5655.
15. Miura J, Yamagishi S, Uchigata Y, Takeuchi M, Yamamoto H, Makita Z, Iwamoto Y. Serum levels of non-carboxymethyllysine advanced glycation endproducts are correlated to severity of microvascular complications in patients with Type 1 diabetes. *J Diabetes Complications.* 2003 Jan-Feb;17(1):16-21. PMID: 12505751 [PubMed - indexed for MEDLINE]
16. Hinton DR, Spee C, He S, Weitz S, Usinger W, LaBree L, et al. Accumulation of NH<sub>2</sub>-Terminal Fragment of Connective Tissue Growth Factor in the Vitreous of Patients With Proliferative Diabetic Retinopathy *Diabetes Care*, March 1, 2004; 27(3): 758 - 764.
17. Tikellis C, Cooper M, Stephen E, Twigg M, Burns WC, Tolcos M. Connective Tissue Growth Factor Is Up-Regulated in the Diabetic Retina: Amelioration by Angiotensin-Converting Enzyme Inhibition *Endocrinology*, February 1, 2004; 145(2): 860 - 866.
18. Roestenberg P, van Nieuwenhoven FA, Wieten L, Boer P, Diekmann T, Tiller AM, et al. Connective Tissue Growth Factor Is Increased in Plasma of Type 1 Diabetic Patients With Nephropathy *Diabetes Care*, May 1, 2004; 27(5): 1164 - 1170.

19. Lam S, van der Geest RN, Verhagen NAM, van Nieuwenhoven FA, Blom IE, Aten J, R. et al. Connective Tissue Growth Factor and IGF-I Are Produced by Human Renal Fibroblasts and Cooperate in the Induction of Collagen Production by High Glucose Diabetes, December 1, 2003; 52(12): 2975 - 2983.
20. Twigg SM, Joly AH, Chen MM, Tsubaki J, Kim HS, Hwa V, et al. Rosenfeld Connective Tissue Growth Factor/IGF-Binding Protein-Related Protein-2 Is a Mediator in the Induction of Fibronectin by Advanced Glycosylation End-Products in Human Dermal Fibroblasts. *Endocrinology*, April 1, 2002; 143(4): 1260 - 1269.
21. Moser B, Desai DD, Downie MP, Chen Y, Yan SF, Herold K, et al. Receptor for Advanced Glycation End Products Expression on T Cells Contributes to Antigen-Specific Cellular Expansion In Vivo. *J. Immunol.*, December 15, 2007; 179(12): 8051 - 8058.
22. Asleh R, Marsh S, Shilkrut M, Binah O, Guetta J, Lejbkowitz F, et al. Genetically Determined Heterogeneity in Hemoglobin Scavenging and Susceptibility to Diabetic Cardiovascular Disease *Circ. Res.*, June 13, 2003; 92(11): 1193 - 1200.
23. Schiel R, Franke S, Appel T, Voigt U, Ross IS, Kientsch-Engel R, Stein G, Müller UA. Improvement in quality of diabetes control and concentrations of AGE-products in patients with type 1 and insulin-treated type 2 diabetes mellitus studied over a period of 10 years (JEVIN). *J Diabetes Complications*. 2003 Mar-Apr; 17(2):90-7. PMID: 12614975 [PubMed - indexed for MEDLINE]
24. Tsukahara H, Sekine K, Uchiyama M, Kawakami H, Hata I, Todoroki Y, Hiraoka M, Kaji M, Yorifuji T, Momoi T, Yoshihara K, Beppu M, Mayumi M. Formation of advanced glycosylation end products and oxidative stress in young patients with type 1 diabetes. *Pediatr Res*. 2003 Sep; 54(3):419-24. Epub 2003 May 21. PMID: 12761359 [PubMed - indexed for MEDLINE]
25. Kass DA . Getting Better Without AGE: New Insights Into the Diabetic Heart *Circ. Res.*, April 18, 2003; 92(7): 704 - 706.
26. Bengmark S . Advanced Glycation and Lipoxidation End Products-Amplifiers of Inflammation: The Role of Food *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, September 1, 2007; 31(5): 430 - 440.
27. Lappas M, Permezel M, Rice GE. Advanced glycation endproducts mediate pro-inflammatory actions in human gestational tissues via nuclear factor- $\kappa$ B and extracellular signal-regulated kinase  $\frac{1}{2}$  *J. Endocrinol.*, May 1, 2007; 193(2): 269 - 277.

28. Galler A, Müller G, Schinzel R, Kratzsch J, Kiess W, Münch G. Impact of metabolic control and serum lipids on the concentration of advanced glycation end products in the serum of children and adolescents with type 1 diabetes, as determined by fluorescence spectroscopy and nepsilon-(carboxymethyl)lysine ELISA. *Diabetes Care*. 2003 Sep;26(9):2609-15. PMID: 12941727 [PubMed - indexed for MEDLINE]
29. Twigg SM, Cao Z, McLennan SV, Burns WC, Brammar G, Forbes JM, et al. Renal Connective Tissue Growth Factor Induction in Experimental Diabetes Is Prevented by Aminoguanidine *Endocrinology*, December 1, 2002; 143(12): 4907 - 4915.

Recibido: 20 de octubre de 2008

Aprobado: 6 de febrero de 2009

*Dra. Liudmila Aponte Ramírez*