

## Glucosilación no enzimática y complicaciones crónicas de la diabetes mellitus

### Non-enzymatic glycosylation and chronic complications of diabetes mellitus

Jeddú Cruz Hernández<sup>I</sup>; Manuel Emiliano Licea Puig<sup>II</sup>

<sup>I</sup> Máster en Ciencias en Atención Integral a la Mujer. Especialista de I Grado en Medicina General Integral. Especialista de I Grado en Endocrinología. Profesor Auxiliar. Hospital Ginecoobstétrico Docente "América Arias". Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>II</sup> Especialista de II Grado en Endocrinología. Investigador Titular. Profesor Auxiliar. Instituto Nacional de Endocrinología. Ciudad de La Habana, Cuba.

---

#### RESUMEN

**INTRODUCCIÓN:** la hiperglucemia es considerada hoy como un factor patogénico fundamental del desarrollo de las complicaciones neurovasculares diabéticas y, específicamente, desempeña un papel preponderante en el fenómeno de la glucosilación no enzimática y la formación de productos finales de la glucosilación avanzada.

**OBJETIVOS:** describir los mecanismos de la formación de los productos finales de la glucosilación avanzada y su relación con las complicaciones de la diabetes mellitus.

**DESARROLLO:** los productos finales de la glucosilación avanzada se producen por la reacción no enzimática de la glucosa y otros derivados glucados (glioxal, metilglioxal y 3-desoxiglucosona) con grupos amino de proteínas de larga vida. La glucosilación altera la estructura, las propiedades físico-químicas y la función de las proteínas intracelulares y extracelulares. En la membrana basal de los pequeños vasos se produce un engrosamiento y una distorsión de su estructura, que ocasiona pérdida de la elasticidad de la pared vascular y una permeabilidad anormal de esta a las proteínas (disfunción endotelial), así como aumento de la génesis de especies reactivas del oxígeno. La unión de productos finales de la glucosilación avanzada a sus receptores de membrana favorece la producción citoquinas y factores de crecimiento por los macrófagos y células mesangiales. Todo lo anterior favorece al desarrollo de aterosclerosis.

**CONCLUSIONES:** los productos finales de la glucosilación avanzada desempeñan

un importante papel en el desarrollo de las complicaciones microvasculares y macrovasculares en el diabético. El control metabólico estricto de la glucemia y, en la actualidad, la terapéutica farmacológica con agentes que inhiben la formación de productos finales de la glucosilación avanzada o tienen acción antioxidante, constituyen alternativas terapéuticas para la prevención y solución del problema de las complicaciones crónicas de la diabetes mellitus.

**Palabras clave:** glucosilación no enzimática, diabetes mellitus, complicaciones crónicas.

---

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** hyperglycemia is nowadays considered as a fundamental pathogenic factor for development of diabetic neurovascular complications and, specifically, plays a prevailing role in phenomenon of non-enzymatic glycosylation and the formation of end-products of advanced glycosylation.

**OBJECTIVES:** to describe the mechanisms of end-products of advanced glycosylation and its relation to complications of diabetes mellitus.

**DEVELOPMENT:** the above mentioned end-products are produced by the non-enzymatic reaction of glucose and other derivatives including glioxal, methylglioxal and 3-desoxiblucosone with amines groups of long-life proteins. The glycosylation changes the structure, the physical-chemical properties and the function of intracellular and extracellular proteins. In basal membrane of small vessels it is produced a thickening and a structure distortion provoking the elasticity of the vascular wall and its abnormal permeability to proteins (endothelial dysfunction), as well as an increase of genesis of oxygen-reactive species. The link of end-products of advanced glycosylation with its membrane receptors favor the production of cytokines and growth factors by macrophages and mesangial cells. All above mentioned favor the development of atherosclerosis.

**CONCLUSIONS:** the end-products of advanced glycosylation play a significant role in the development of microvascular and macrovascular complications in the diabetic patient. The strict metabolic control of glycemia and at present time, the pharmacologic therapeutics including agents inhibiting the formation of end-products of the advanced glycosylation have antioxidant action or are therapeutical alternatives for prevention and solution of the problem related to chronic complications of diabetes mellitus.

**Key words:** non-enzymatic glycosylation, diabetes mellitus, chronic complications.

---

## INTRODUCCIÓN

Aunque se ha demostrado que la enfermedad vascular asociada con la diabetes mellitus (DM) es multifactorial, cada vez se reconoce con más fuerza la relación existente entre la hiperglucemia y el desarrollo de complicaciones microvasculares, macrovasculares y neuropáticas.<sup>1-4</sup> Los resultados del Ensayo del Control y Complicaciones de la Diabetes (DCCT), han proporcionado evidencias confirmatorias y concluyentes de esta relación.<sup>5,6</sup>

---

Las modificaciones de las proteínas existentes en el plasma, las proteínas estructurales y otras macromoléculas, se incrementan en la DM, como consecuencia del aumento de la glucosilación (secundaria a la hiperglucemia) y quizás debido, en parte, también al incremento del estrés oxidativo. Los efectos combinados de la glucosilación y de la oxidación de las proteínas, pueden contribuir al desarrollo de complicaciones macrovasculares y microvasculares en el sujeto que padece DM.<sup>7,8</sup>

En la DM tipo 1, los valores elevados de glucosa sanguínea están presentes desde el mismo momento de la expresión clínica de la enfermedad; pero es muy probable que en la DM tipo 2, los niveles de glucemia estén elevados mucho antes del inicio clínico de esta. En las células del riñón, la retina y en el nervio, donde la entrada de glucosa no es dependiente de insulina, también la concentración de glucosa está aumentada.

La hiperglucemia puede determinar una serie de cambios irreversibles, a través de la promoción de un número importante de transformaciones en la bioquímica y composición de las proteínas.<sup>8</sup> En condiciones anormales (hiperglucemia), la glucosa puede reaccionar no enzimáticamente con proteínas, conformándose una unión covalente estable y en futuros reordenamientos se forma un pigmento fluorescente de color pardo, fenómeno descrito por *Maillard* como "caramelización" de las proteínas. Se ha sugerido que estas reacciones ocurren *in vitro* de forma acelerada en la DM, responsabilizándosele de los cambios estructurales y funcionales tan importantes que se producen en las proteínas plasmáticas y estructurales en los individuos diabéticos, lo que favorece el desarrollo de las complicaciones crónicas que pueden sufrir estos en un momento determinado de la evolución de su enfermedad metabólica.<sup>9-11</sup>

La elevación de la glucemia, a través de los efectos combinados de la glucosilación y la oxidación de las proteínas, constituye un factor importante en el desarrollo y la progresión de las complicaciones microvasculares de la DM tipo 1 y es muy probable que estas observaciones sean también válidas para la diabetes tipo 2.<sup>12</sup>

A continuación se discutirán los elementos relevantes que relacionan a la glucosilación no enzimática de las proteínas con las complicaciones crónicas de la DM.

## **BIOQUÍMICA DE LA GLUCOSILACIÓN NO ENZIMÁTICA DE PROTEÍNAS**

Una de las principales consecuencias fisiopatológicas de la hiperglucemia la constituye la excesiva interacción química de la glucosa con las proteínas, se produce la unión entre la primera y estas últimas sin que haya necesidad de una intervención enzimática; este proceso depende exclusivamente de la concentración de la glucosa y del tiempo de contacto de este monosacárido con las proteínas, determinados por la vida media de cada una de estas en particular.<sup>13</sup> Por todo ello, es que algunos autores no están de acuerdo con el uso del término glucosilación, que implica la intervención de enzimas glucosilasas para que se produzca, y prefieren el de glucación; no obstante, no existe acuerdo unánime al respecto y el uso del término glucosilación está más difundido.<sup>14</sup>

El proceso de glucosilación de las proteínas se ha dividido convencionalmente en dos etapas: inicial o temprana y tardía o avanzada, y la diferencia fundamental

entre ambas, teniendo en cuenta sus adversas consecuencias orgánicas, radica en la reversibilidad de la primera, al contrario de la segunda, porque una vez que este proceso se encuentra en un estadio avanzado, la vuelta a atrás es imposible, dado que se van produciendo varias reacciones en cascadas que involucran y afectan de modo permanente a la gran mayoría de las moléculas orgánicas conocidas.<sup>11,12</sup>

## **GLUCOSILACIÓN INICIAL O TEMPRANA**

En la etapa inicial del proceso de glucosilación se forman enlaces covalentes entre los grupos libres amino (reactivos) de las proteínas y la glucosa.<sup>12</sup> Estos grupos se ubican generalmente sobre las cadenas laterales de lisina y en los residuos NH<sub>2</sub>-terminales de los aminoácidos. Esta reacción solo ocurre cuando la glucosa se encuentra en su conformación de cadena abierta, lo cual permite que quede expuesto un grupo carbonilo reactivo (grupo aldehído de la glucosa), y es la que da lugar a la base de Schiff.<sup>13,14</sup>

Por lo tanto, el primer producto de reacción de la glucosilación temprana es la aldimina inestable conocida como base de Schiff, y este proceso bioquímico inicial es fácilmente reversible. Sin embargo, la base de Schiff formada también puede experimentar un reordenamiento intramolecular lento, que la transformaría en un producto más estable, el compuesto de Amadori, conocido también con el nombre de fructosamina (1-amino-1-desoxicetona); metabolito que surge cuando el resto glucosil de la base de Schiff se transforma en fructosil, por el desplazamiento del grupo carbonilo del carbono 1 al 2 durante el reordenamiento. Tanto la reacción en la cual se forma la base de Schiff como en la consecutiva en la que se produce el compuesto de Amadori, son reversibles, lo cual significa que la interrupción del contacto de la glucosa con la proteína en cualquiera de estas etapas produce la reversión completa del efecto.<sup>13,14</sup>

La fructosamina puede deteriorarse mediante oxidación, se forman intermediarios dicarbonilo muy reactivos (glicotoxinas), como la 3-desoxiglucosona y la carboximetil lisina, que pueden por sí mismos modificar las proteínas. Los niveles de fructosamina se correlacionan con los valores de hemoglobina A1c. En la DM, las alteraciones metabólicas atribuidas a la fructosamina predominan en las proteínas de vida media corta.<sup>13-15</sup>

## **GLUCOSILACIÓN TARDÍA O AVANZADA**

La conversión del compuesto de Amadori en productos finales de la glucosilación avanzada (PFGA) es un proceso que ocurre en proteínas estructurales, muy abundantes en el organismo, y de vida media larga como, colágeno, elastina, mielina, actina, miosina y proteínas del cristalino; aunque también puede afectar a proteínas de vida media corta, como las lipoproteínas, especialmente cuando estas son retenidas por períodos prolongados en la pared arterial. La formación de fructosamina es un prerrequisito para que ocurra la glucosilación avanzada. Esta última implica una serie de reacciones que abarcan los residuos de fructosamina de las proteínas o las interacciones de las proteínas con los productos de disociación de la fructosamina.<sup>16,17</sup>

Estas reacciones conducen a la formación de un gran número de PFGA estables y, virtualmente, en todas está implicada la oxidación por radicales libres del oxígeno;

no obstante, los PFGA pueden también derivarse de la autooxidación de la glucosa misma. Por lo tanto, la N e-carboximetil lisina (CML) puede formarse por descomposición oxidativa de la fructosamina o por interacciones de las proteínas con el glioxal, producto principal de la autooxidación de la glucosa, que contiene un grupo dicarbonilo, y también puede ser un producto de la peroxidación de los lípidos.<sup>18,19</sup>

Los PFGA abarcan muchas especies reactivas de compuestos, que se colorean de pardo-amarillento, son fluorescentes y presentan enlaces cruzados entre proteínas diferentes o entre diferentes zonas de una misma proteína. Solo dos se han identificado de forma concluyente: la CML y las especies estrechamente relacionadas con esta como la N e-carboximetil hidroxilisina, el 3-(N e-lisino)-ácido láctico y la N e-carboxietil lisina; y la pentosidina. Otros han sido identificados *in vivo* mediante técnicas inmunológicas, algunos de estos son la pirrolina y las estirpes cruzadas. Es aceptado que las reacciones de oxidación en las que intervienen los radicales libres están involucradas en la formación de CML y de pentosidina, y en la mayor parte, si no de todos los enlaces cruzados en los que está presente la glucosa.<sup>18,19</sup>

Se ha señalado la existencia de otra vía alternativa de la glucosilación avanzada en la que está implicada el metilglioxal, otro compuesto dicarbonilo derivado de las triosas fosfato, que es generado dentro de las células a partir del metabolismo del gliceraldehído 3-fosfato, así como de la oxidación de las cetinas. Este compuesto altamente tóxico está aumentado en la DM y es capaz de modificar rápidamente las proteínas y generar PFGA. El catabolismo del metilglioxal es dependiente de glutatión reducido y es probable que este último disminuya si aumenta el estrés oxidativo, lo que condicionaría un incremento de la permanencia del tóxico dentro de la célula y, por consiguiente, una prolongación de sus efectos celulares deletéreos. Las triosas fosfato (fructosa 1-6-bifosfato, gliceraldehído 3-fosfato y dihidroxiacetona fosfato), productos de la primera fase de la glucólisis, están aumentadas en la DM debido a la inhibición de la enzima gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa. Estas triosas son, por lo menos, 100 veces más autooxidables y 200 veces más glucosilantes, respectivamente, que la glucosa, y son el origen de la síntesis enzimática del metilglioxal. Además, el gliceraldehído 3-fosfato está siempre en forma de cadena abierta, por lo que puede formar PFGA más rápidamente que la glucosa, y el producto de su reducción, conocido como glicerol 3-fosfato, es el sustrato inicial de la síntesis de diacilglicerol, que activa a la proteína quinasa C.<sup>20,21</sup>

## **COMPOSICIÓN Y PROPIEDADES DE LOS PRODUCTOS FINALES DE LA GLUCOSILACIÓN AVANZADA**

Desde hace muchos años, los productos derivados de la glucosilación eran conocidos por los químicos de los alimentos como productos de la reacción de Maillard, debido a que este tipo de reacción fue descubierta por el químico francés Maillard en 1912, estudiando la pérdida de lisina en los alimentos conservados, cuando en estos abundan las proteínas y los glúcidos; sin embargo, sus consecuencias fisiopatológicas eran esencialmente desconocidas hasta la década de los 70 del pasado siglo. Esta reacción ocurre sobre todo en proteínas de vida media prolongada como el colágeno, la elástica y la mioglobina, entre otras, aunque ha podido comprobarse también en la hemoglobina y en otros compuestos aminados como, la fosfatidiletanolamina, lípido presente en las lipoproteínas de baja densidad (LDL).<sup>18,22</sup>

Los PFGA pueden presentar en su estructura molecular un predominio de los anillos imidazólicos o pirrólicos, y se reconocen de estos compuestos, entre otros, los siguientes:<sup>23</sup>

\_ Moléculas con anillos imidazólicos (imidazolonas).

- 2-(2-furoil-4(5)-(2-furanil)-1H-imidazol (FFI).
- 1-alkil-2-formil-3,4 diglicosil pirrol (AFGP).

\_ Moléculas con anillos pirrólicos (pirrolonas).

- 5 hidroximetil-1-alkil pirrol-2-carbaldehído (pirrolina).
- Carboximetil lisina (CML).
- Pentosidina.

Estas moléculas adoptan un color amarillo marrón (a excepción de la pentosidina) y pueden fluorescer (excepto la CML, la pirrolina y la pentosidina) al ser estimuladas con luz de 370 nm de longitud de onda, emitiendo luz de una longitud de onda que oscila entre los 440 y los 460 nm. La propiedad química más importante de estas moléculas es la de formar puentes intercatenarios entre las proteínas que alteran su estructura y, por consiguiente, su función biológica.<sup>23,24</sup>

La compleja molécula del compuesto de Amadori puede experimentar oxidación, deshidratación, fragmentación y numerosos reordenamientos, dando origen a diferentes PFGA. Uno de ellos se asemeja a los derivados heterocíclicos del imidazol, el FFI, y resulta de la combinación de las moléculas del compuesto de Amadori. Este compuesto es de color amarillo-marrón y fluorescente, y se le ha aislado en algunos tejidos por hidrólisis enzimática. Otro de los PFGA resulta de la combinación del compuesto de Amadori y de uno de sus derivados, la 3-desoxiglucosona. Esta reacción da origen a un producto intermedio de estructura cíclica tipo pirrólica, que mediante sus grupos hidroxilo se combina con los grupos amino de otras moléculas, dando lugar a la formación de nuevos PFGA.<sup>23,25</sup>

La CML es un producto que surge de la segmentación oxidativa de la fructosamina. En el diabético, se acumula significativamente y de forma casi lineal con la edad del colágeno de la piel, y su contenido no se reduce con el buen control metabólico a largo plazo. La CML se comporta de una forma atípica, en relación con los otros PFGA, porque no es fluorescente y, aunque es un producto estable, no es reactiva, por lo cual no se implica en la formación de enlaces cruzados.<sup>25,26</sup>

Por su parte, la pentosidina, que representa menos de 1 % de los PFGA encontrados *in vivo*, es el resultado del enlace cruzado de los aminoácidos arginina y lisina, cada uno de los cuales perteneciente a diferentes moléculas de proteína, en ese caso. Este producto se deposita en las proteínas de larga duración de una forma casi lineal durante toda la vida y su acumulación se acelera con la presencia de la DM. La pentosidina se deriva de las pentosas y de otros carbohidratos, entre los que no se incluye la glucosa, por lo que no es un producto directo de la glucosilación (no es un derivado de los compuestos de Amadori). Los niveles elevados de pentosidina que se aprecian en los diabéticos, son quizá un resultado de la hiperglucemia, aunque para su formación solo se requiere de un medio oxidativo; este producto es intensamente fluorescente.<sup>25,26</sup>

## GLUCOSILACIÓN NO ENZIMÁTICA DE LA HEMOGLOBINA

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.<sup>27-29</sup>

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. 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. Esta 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.<sup>28-30</sup>

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 cadenas 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.<sup>29,31-34</sup>

## NOMENCLATURAS DE LAS HEMOGLOBINAS GLUCOSILADAS

---

La hemoglobina es una ferroproteína que constituye el componente fundamental de los glóbulos rojos de la sangre y unido a ella se transporta el oxígeno por todo el organismo humano.

Se describen los tipos de hemoglobinas siguientes:<sup>28,29</sup>

\_ HbA: la forma mayor de la hemoglobina, también conocida como forma nativa, es un tetrámero no modificado, compuesto por dos cadenas alfa y dos cadenas beta.

\_ HbA0: el componente mayor de la HbA, identificado así por medio de sus propiedades cromatográficas y electroforéticas. Modificaciones postranscripcionales, incluida la glucosilación, se pueden producir en esta fracción, pero no afectan las propiedades de carga de esta proteína.

\_ HbA1: surge por modificaciones postranscripcionales de la HbA0; son formas de HbA cargadas más negativamente, detectadas por métodos cromatográficos y electroforéticos.

\_ HbA1a1: subcomponente cromatográfico de la HbA1.

\_ HbA1a2: subcomponente cromatográfico de la HbA1.

\_ HbA1b: subcomponente cromatográfico de la HbA1.

\_ HbA1c: subcomponente cromatográfico principal de la HbA1. Se produce por la unión de la glucosa al residuo amino terminal de la valina de la cadena beta (unión cetoamina).

\_ Pre HbA1c: forma lábil de HbA1c, que contiene glucosa unida por una unión almidina al residuo amino terminal de la valina de la cadena beta.

Las hemoglobinas glucosiladas surgen como modificaciones postranscripcionales de la HbA debido a la unión de la glucosa a los residuos amino terminal de la valina de la cadena beta y épsilon amino de la lisina de las cadenas alfa y beta, respectivamente, por lo que el término hemoglobinas glucosiladas es un genérico que identifica a las hemoglobinas que contienen glucosa y(o) otros carbohidratos. Estos compuestos también se conocen como hemoglobinas rápidas, porque migran más rápido hacia el ánodo en la electroforesis de hemoglobina y eluyen más tempranamente en cromatografía de intercambio catiónico que la HbA.<sup>28-30,34</sup>

## **FACTORES QUE PUEDEN AFECTAR EL RESULTADO DE LA DETERMINACIÓN DE LA HbA1c**

Se conoce que diferentes factores pueden afectar el resultado de la determinación de la HbA1c y entre ellos están:<sup>28,29</sup>

- Condiciones de determinación: temperatura, pH, fuerza iónica y tamaño de la columna de intercambio catiónico, entre otras.
- Presencia de intermediarios lábiles.

- Situaciones como anemia hemolítica, flebotomía y transfusiones recientes, fármacos antirretrovirales y otros (por ejemplo, dapsona), vitaminas C y E, pérdida aguda o crónica de sangre y el embarazo, que disminuyen los valores de HbA1c.
- Existencia de hemoglobinopatías: presencia de HbF, HbC y HbS, que incrementan falsamente la concentración de HbA1c.
- Metabolitos que interfieren con su determinación, por ejemplo, los triglicéridos y la bilirrubina elevados aumentan la concentración de HbA1c.
- Presencia de otros productos unidos a la HbA1 que no son glucosa: opiáceos, algunos venenos, urea, alcohol y aspirina, sobre todo, cuando esta última se usa de forma prolongada y a dosis elevadas, aumentan los valores.
- Pueden observarse valores elevados después de una esplenectomía, en la uremia y en la anemia ferropénica
- Procedimiento incorrecto de la muestra de sangre e inadecuadas condiciones de almacenamiento.

## **GLUCOSILACIÓN NO ENZIMÁTICA DE LAS PROTEÍNAS DEL CRISTALINO**

La insuficiente especificidad del proceso de glucosilación no enzimática sugiere que otras proteínas del organismo, además de la HbA, pueden ser igualmente afectadas por este fenómeno. Las proteínas del cristalino son otras que pueden sufrir el proceso de glucosilación en presencia de altas concentraciones de glucosa. 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.<sup>35</sup>

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:<sup>35-37</sup>

- 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.<sup>37,38</sup>

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.<sup>37-39</sup>

## **GLUCOSILACIÓN DE LAS PROTEÍNAS DEL PLASMA Y DE LAS MEMBRANAS**

Las otras proteínas plasmáticas, en general, no tienen tan larga vida como la hemoglobina (60 d para la hemoglobina y solo de 16 d para la albúmina), pero igualmente son afectadas por las elevadas concentraciones de glucosa en sangre. Algunos resultados confirman que las proteínas circulantes pueden ser glucosiladas *in vivo* y que este hecho podría estar implicado en la patogenia de las complicaciones crónicas de la DM. La glucosilación produce disímiles modificaciones de las proteínas y sus efectos sobre estas también pueden ser variados: insolubilidad, resistencia a las enzimas de degradación, no reconocimiento por los receptores habituales y generación de autoinmunidad, entre otros.<sup>40,41</sup>

Se creía que la actividad de las moléculas enzimáticas reguladoras o cofactores, y de las mayorías de las proteínas plasmáticas, no se alteraba por la glucosilación, considerando que tienen una vida media corta, y que las proteínas dañadas eran sustituidas rápidamente por otras nuevas con capacidad funcional intacta; sin embargo, algunas investigaciones realizadas han confirmado lo contrario. Así, se ha descrito que la ribonucleasa A incubada con glucosa durante 24 h pierde 50 % de su actividad inicial, y que la catepsina B y la papaína, proteasas con grupos sulfhidrilos, pierden más de 70 % de su actividad bajo los efectos de 2 semanas de glucosilación no enzimática. En todos estos casos, parece ser que la ausencia de residuos de lisina libres en el sitio activo de estas enzimas es determinante para que se altere la función por causa de la glucosilación; no obstante, la pérdida de la actividad también puede estar asociada con el surgimiento de cambios conformacionales de la molécula por la glucosilación, tal como ocurre en el caso de la beta N-acetil D glucosaminidasa del riñón.<sup>42,43</sup>

Asimismo, se ha observado que la glucosilación no enzimática de la antitrombina III reduce su afinidad por la heparina, disminuyendo de manera significativa la inhibición *in vivo* que ejerce la heparina sobre esta, defecto que se debe al marcado descenso del contenido de heparán sulfato en los tejidos y que causaría finalmente una disminución de la susceptibilidad de la fibrina a ser degradada por la plasmina; esto justifica el excesivo depósito vascular de fibrina que se ha constatado en la diabetes mellitus, lo cual la convierte en una enfermedad protrombótica.<sup>44</sup> El proceso de glucosilación también puede afectar de modo negativo a otras proteínas como la fibronectina y la laminina (componentes de la membrana basal de los capilares), porque disminuye en ambos casos su capacidad de interactuar con ligandos y modifica así la organización de las membranas basales,<sup>45,46</sup> también la

transferrina, proteína plasmática ligadora de hierro, que traería como consecuencia un aumento del hierro libre en sangre y de su poder oxidante.<sup>47</sup>

Algunos estudios han demostrado que la albúmina es glucosilada de manera postrancripsional 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 masangio tiene receptores para la albúmina glucosilada y que esta 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. Además, se ha comprobado que la albúmina glucosilada es casi tan potente como la glucosa para promover la síntesis del factor de crecimiento tisular  $\beta$  (TGF- $\beta$ ); 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.<sup>48</sup>

Otras proteínas plasmáticas que pueden sufrir el proceso de glucosilación-oxidación, son las lipoproteínas, favorecido por la presencia en estas 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, como un descenso de 25 a 60 % de su contenido de ácido siálico, una disminución de su diámetro y un aumento de su densidad y de su electronegatividad.<sup>49,50</sup>

En el caso particular de las LDL, la glucosilación interfiere en el reconocimiento de esta 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.<sup>49,50</sup>

Se plantea que existen tres posibles vías de formación de PFGA-LDL:<sup>51</sup>

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 extravascular.

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 B<sub>100</sub> 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 estas.<sup>51,52</sup>

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 B<sub>2</sub>, así como la agregación plaquetaria (efecto protrombótico). Todas estas situaciones contribuyen a aumentar la disfunción endotelial en el individuo diabético.<sup>53-55</sup>

Otras lipoproteínas que pueden glucosilarse son la VLDL, la HDL y la lipoproteína (a), fenómeno que también afectaría en estos casos tanto a su porción apoproteica como lipídica, aunque con un predominio de esta última, correspondiendo el mayor contenido encontrado de glucosa adherida a lípidos a la fosfatidiletanolamina. 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 estas 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.<sup>13,56,57,52</sup>

La HDL también sufre glucosilación, lo que 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.<sup>13,51,52</sup>

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.<sup>56,57</sup> 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.<sup>58</sup>

## GLUCOSILACIÓN NO ENZIMÁTICA DEL 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 estas al unirse entre ellas, porque se produce una reticulación anárquica de las fibras.<sup>18,59,60</sup>

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.<sup>61,62</sup>

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. 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 (teoría del atrapamiento de Brownlee); lo cual dañaría aún más la membrana. Por otra parte, el atrapamiento de la LDL en el espacio subendotelial, convierte a esta macromolécula de vida corta en un producto de larga vida, eso facilita su glucosilación y su consecuente fagocitosis por el macrófago, que se va convirtiendo progresivamente en una célula espumosa (componente fundamental de la placa ateromatosa), en la medida en que se va llenando de lípidos (LDL fagocitadas).<sup>18,62-65</sup>

Se ha comprobado también que la glucosilación de los componentes de la matriz extracelular hace desaparecer la señal inhibitoria para la síntesis de estos, los cuales comienzan a producirse de forma exagerada. Esta glucosilación también

aumenta la resistencia de la membrana basal a la digestión por proteasas (colagenasas).<sup>61,62</sup>

En el caso específico de la matriz extracelular del cartílago, la glucosilación de esta 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 tipo 1.<sup>14</sup>

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.<sup>66,67</sup>

## **GLUCOSILACIÓN NO ENZIMÁTICA DE LA MIELINA**

La neuropatía diabética afecta a los nervios periféricos motores y sensitivos, y también al sistema nervioso autónomo. Varias anormalidades bioquímicas se producen en el nervio del individuo diabético, entre las que se incluyen, la pérdida de mioinositol, la disminución de la síntesis proteica y la acumulación de sorbitol. Recientemente, también se ha estudiado la glucosilación no enzimática de las proteínas del nervio en el estado diabético, y en preparaciones de nervios de ratas con esa condición, se ha encontrado que estas proteínas se encuentran de 2 a 8 veces más glucosiladas en las ratas diabéticas que las normales.<sup>68,69</sup>

Se ha precisado que la mielina modificada por el proceso de glucosilación 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.<sup>70,71</sup>

De igual manera, se ha evidenciado que la glucosilación 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 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.<sup>70,72</sup>

## **GLUCOSILACIÓN NO ENZIMÁTICA DEL ADN**

Debido a que los ácidos nucleicos son moléculas de larga vida y bajo recambio (al menos en las células que no se encuentran en pleno proceso de división), a que poseen grupos amino primarios y a que se encuentran dentro del núcleo celular en íntimo contacto con el azúcar reductor ADP-ribosa, estos constituyen un blanco potencial para la formación de PFGA.<sup>73,74</sup> La glucosilación del ADN puede ser

responsable de numerosos cambios en esta molécula, como su ruptura, deterioro de la reparación, la replicación y la transcripción. Todo lo anterior puede favorecer la aparición de alteraciones cromosómicas y el envejecimiento celular precoz, y se ha postulado que la glucosilación del ADN pudiera ser la causante del aumento de la frecuencia de anomalías congénitas encontradas en los fetos de madres diabéticas y que pueden comprometer a cualquier sistema del organismo.<sup>24,73,75</sup>

Los PFGA también pueden interactuar con las histonas, proteínas básicas que constituyen aproximadamente 50 % de la masa total de los cromosomas y que desempeñan un papel importante en el correcto funcionamiento de los genes. En estudios experimentales con ratas diabéticas, se encontró que las histonas de los hepatocitos de estas ratas tenían niveles de acumulación de PFGA tres veces superiores a los de sus controles no diabéticos, y que la adhesión de PFGA a estas proteínas aumentaba con la duración de la diabetes y con la edad de los animales.<sup>76,77</sup>

## RECEPTORES DE PRODUCTOS FINALES DE LA GLUCOSILACIÓN AVANZADA

Se han encontrado receptores de PFGA en numerosas células, como macrófagos, monocitos, linfocitos, células endoteliales y mensangiales, pericitos, podocitos, astrocitos y microglías, entre otras, y también resultan disímiles los receptores que son capaces de ligar a los PFGA: los receptores *scavenger* I y II, el receptor de PFGA 1-3, el oligosacaril transferasa-48, la fosfoproteína 80K-H y la galectina-3.<sup>78</sup>

El primer receptor de PFGA fue identificado en macrófagos de peritoneo de ratones diabéticos y por análisis *scatchard*, se dedujo, en aquella ocasión, que había  $1,06 \times 10^5$  de estos receptores por macrófago, con una afinidad de  $1,75 \times 10^7$  M, sin que existiera una contrarregulación negativa. Los autores que realizaron aquel estudio enfatizaron el hecho de que el tipo de receptor descrito reconocía específicamente proteínas modificadas postranscripcionalmente y que la expresión de esta estaba regulada por los niveles de insulinemia, de modo que en situaciones de hiperinsulinismo, las proteínas PFGA-modificadas persistían durante más tiempo sin ser captadas por los macrófagos.<sup>79-81</sup>

Específicamente, cuando los PFGA se unen al macrófago, se produce un aumento de la producción por estas células de interleuquina-1, factor de crecimiento insulínico tipo I, factor de necrosis tumoral alfa y factor estimulante de colonias de granulocitos, mediadores que están implicados en la estimulación de la síntesis glomerular de colágeno tipo IV, laminina y heparán sulfato, así como de la proliferación de macrófagos y células musculares lisas de la pared arterial.<sup>78</sup> En el caso de las células mesangiales glomerulares, cuando se activan aquí los receptores de PFGA, se incrementa la secreción del factor de crecimiento plaquetario, que promueve la producción de colágeno tipo IV, laminina y proteoglicanos, lo que condiciona la aparición de expansión mesangial, glomeruloesclerosis focal y proteinuria.<sup>82</sup>

Las células endoteliales también presentan receptores específicos para los PFGA. En este tipo de célula los cambios que producen los PFGA son acumulativos y procoagulantes; uno de ellos es la rápida disminución de la actividad de la trombomodulina, lo que impide la activación de la vía de la proteína C (un agente anticoagulante capital). Otro cambio procoagulante inducido por la ocupación del receptor de PFGA en estas células, es el aumento de la actividad del factor tisular (vía extrínseca de la coagulación), lo que determina la activación de los factores de

la coagulación IX y X, y la agregación directa del factor VII a. Por otra parte, también se ha observado un aumento en la producción del potente péptido vasoconstrictor, endotelina-1, promotor de disfunción endotelial y de estrés oxidativo, por parte de las células endoteliales dañadas por PFGA. Todo lo anterior determina la aparición de alteraciones vasculares como trombosis focal, vasoconstricción excesiva e hiperreactividad vascular y sus nefastas consecuencias orgánicas.<sup>10</sup>

La existencia de un gran polimorfismo en los genes que codifican la síntesis de los receptores de PFGA y(o) de los mecanismos de transducción de señales que se producen después de la estimulación de estos receptores, podría explicar las conocidas variaciones interindividuales en la aparición de complicaciones en individuos con niveles de glicemia comparables.<sup>83</sup>

## **FORMACIÓN INTRACELULAR DE PRODUCTOS FINALES DE LA GLUCOSILACIÓN AVANZADA**

La formación intracelular de PFGA ocurre más rápidamente que en el medio extracelular y ocasiona diferentes consecuencias, las que dependen de la molécula que haya sido afectada por este proceso patológico.<sup>62</sup>

En el interior de las células existen otros azúcares que reaccionan con mayor rapidez que la glucosa para formar PFGA; se ha comprobado que la tasa de formación de PFGA con la fructosa es significativamente mayor que con los derivados de la glucosa.<sup>18,84</sup> La glucosilación intracelular también puede afectar a intermediarios intracelulares del metabolismo glucídico como, la glucosa-6-fosfato y el gliceraldehído-3-fosfato.<sup>18</sup>

Otro ejemplo de glucosilación intracelular que merece ser destacado ocurre en los eritrocitos. Aparte de la HbA1c, estas células contienen la hemoglobina-PFGA, que representa 0,24 % de la hemoglobina total en los sujetos normales y es tres veces más abundante en los diabéticos.<sup>85</sup> Por otra parte, la glucosilación intracelular del ADN puede provocar mutaciones; estudios realizados en animales transgénicos han demostrado la implicación de los PFGA en el aumento de la frecuencia de teratogénesis asociada con el embarazo de mujeres diabéticas, o sea, la acción mutagénica de los PFGA determinaría la aparición de alteraciones de la embriogénesis.<sup>86</sup>

## **ESTRÉS OXIDATIVO Y PRODUCTOS FINALES DE LA GLUCOSILACIÓN AVANZADA**

El nivel de sustratos oxidables (glucosa, productos de Amadori, compuestos reactivos carbonil y ácidos grasos poliinsaturados) es elevado en la sangre y en los tejidos de los individuos diabéticos, a diferencia de la concentración de ácido ascórbico, alfa-tocoferol y glutatión, la cual está disminuida, lo que constituye una expresión de la reducción de los mecanismos endógenos antioxidantes. Diferentes investigadores han estudiado la acumulación de disímiles tipos de PFGA (CML, pentosidina, pirrolina, entre otros) en animales y personas diabéticos para conocer la relación existente entre estos productos y la aparición de complicaciones microvasculares, y la mayoría han hallado alguna correlación entre estos dos aspectos. Los PFGA han sido identificados en varias proteínas tisulares; estos se

generan a partir de reacciones de oxidación no catalizadas por enzimas y pueden desencadenar y propagar lesiones mediadas por radicales libres.<sup>87,88</sup>

Se conoce que la hiperglucemia, la cual representa la característica fundamental de la DM, promueve la activación de varias reacciones involucradas en procesos metabólicos donde se generan metabolitos intermediarios que tienen acción prooxidante. Esta también condiciona el aumento del metabolismo anaerobio (glucólisis anaerobia), con la consiguiente excesiva producción y acumulación de lactato, lo que constituye un evento generador de radicales libres. Se sabe que una posible fuente de radicales libres en la diabetes es la autooxidación de la glucosa, la cual facilita la generación de cetoaldehídos reactivos y la formación de PFGA, potentes reductores que generan radicales de oxígeno en presencia de hierro o cobre. Además, el aumento de la oxidación del sorbitol con la consecuente formación de fructosa, puede incrementar la producción del anión superóxido a través de la reducción de la prostaglandina  $G_2$  en  $H_2$ .<sup>89,90</sup>

Por otro lado, la hiperglucemia puede debilitar las defensas antioxidantes, esto facilita que los radicales libres dañen a varias moléculas intracelulares y extracelulares e, incluso, a proteínas estructurales. Así, se ha comprobado una reducción de la concentración de vitamina C en leucocitos y una depleción plasmática de vitamina E en sujetos diabéticos, además de una disminución eritroleucocitaria de enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa, la catalasa y la glutatión peroxidasa.<sup>91-93</sup>

## **INTERFERENCIA DE LOS PRODUCTOS FINALES DE LA GLUCOSILACIÓN AVANZADA 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-sintetasa, 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.<sup>94,95</sup>

La acelerada inactivación del ON, como consecuencia de su interacción con los PFGA, conlleva al obligado incremento de la actividad de la ON-sintetasa, 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 sintetasa, 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.<sup>96,97</sup>

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

---

glutación peroxidasa que tiene actividad antioxidante, fenómeno que pudiera contribuir también al aumento del estrés oxidativo.<sup>98,99</sup>

## **PAPEL PATOGENICO DE LOS PRODUCTOS FINALES DE LA GLUCOSILACIÓN AVANZADA**

Los PFGA pueden causar daño tisular por medio de dos mecanismos: *directamente*, produciendo fenómenos como, disminución de la resistencia de las proteínas a la acción proteolítica de las enzimas degradantes, entrecruzamiento y atrapamiento de proteínas, inducción de la oxidación lipídica e inactivación del ON, e *indirectamente*, mediante la inducción de quimiotaxia, estimulando la síntesis de citoquinas y la producción de matriz extracelular alterando la proliferación celular, aumentando la actividad plasmática procoagulante y la permeabilidad vascular, e incrementando el estrés oxidativo y el índice de mutación del ADN.<sup>100</sup>

Cuando se produce un aumento en la formación de PFGA secundario a la hiperglucemia, ocurre un incremento de su deposición en la matriz extracelular y se alteran, entonces, las propiedades funcionales de varias moléculas importantes de la matriz endotelial, lo que acarrea la aparición de trastornos de la renovación y el crecimiento celular, y un aumento del daño vascular. Los PFGA inducen un incremento de la producción del factor de necrosis tumoral alfa, la interleuquina-1, el factor de crecimiento derivado de las plaquetas y del factor de crecimiento tipo 1 similar a la insulina (IGF-1), y en los monocitos-macrófagos, reprime la síntesis de ON. Asimismo, los PFGA también interfieren en las interacciones célula-matriz, como sucede en el caso de la modificación del colágeno tipo IV, lo que provoca una disminución de la adhesión de sus dominios de ligadura a las células endoteliales, y reducen la actividad de la trombosmodulina en estas células.<sup>101,102</sup>

## **PRODUCTOS FINALES DE LA GLUCOSILACIÓN AVANZADA Y COMPLICACIONES DE LA DIABETES MELLITUS**

Se ha planteado que los PFGA pueden participar en el desarrollo de las complicaciones microvasculares y macrovasculares de la DM por medio de los mecanismos siguientes:<sup>103</sup>

- Provocando modificaciones fisicoquímicas en disímiles biomoléculas y, en consecuencia, alteraciones estructurales y funcionales de las moléculas glucosiladas.
- Produciendo alteraciones de varios procesos biológicos, efecto mayormente mediado por la unión de las moléculas modificadas al receptor de PFGA.
- Incrementando la producción de radicales libres, con aumento del estrés oxidativo.

Tanto en hombres como en animales de experimentación, se ha observado una asociación entre el nivel de acumulación de proteínas modificadas por los PFGA y la severidad de las complicaciones microangiopáticas. La inyección de proteínas modificadas por PFGA en animales de experimentación no diabéticos, ocasiona el desarrollo de complicaciones microvasculares en estos.<sup>103</sup>

La administración de aminoguanidina es capaz de inhibir el desarrollo y la progresión de las complicaciones microvasculares en la DM. La vasodilatación, el incremento del flujo sanguíneo y el aumento de la permeabilidad capilar, constituyen las manifestaciones típicas del comienzo de la microangiopatía diabética. Es conocido que las proteínas modificadas por los PFGA son capaces de producir estos cambios y, además, de alterar el enlace del heparán sulfato con otros componentes de la matriz extracelular, lo que influye también en el incremento de la permeabilidad capilar debido a la pérdida de los sitios aniónicos.<sup>104</sup>

## RETINOPATÍA

En esta complicación microangiopática aparecen alteraciones de la interacción célula-matriz en la pared microvascular, lo cual puede ser consecuencia de las modificaciones de las glucoproteínas estructurales por los PFGA. La expresión de receptores de PFGA por las células vasculares de la retina, sugiere que estos están implicados en la patogenia de la retinopatía diabética. En estudios experimentales realizados en retina de bovinos, se ha observado que la acumulación excesiva de PFGA puede tener una acción tóxica sobre los pericitos y las células endoteliales. Así, se describen varias alteraciones estructurales encontradas en la retina afectada por la hiperglucemia como, engrosamiento de la membrana basal de los capilares retinianos y pérdida selectiva de pericitos con conservación de las células endoteliales; esto último contribuye a la aparición de la hiperpermeabilidad típica que presentan estos vasos. Por otro lado, también se ha precisado que la presencia de microaneurismas retinianos, se correlaciona directamente con la desaparición de los pericitos, porque con esto se produce un debilitamiento de la pared vascular y aparecen en esta, zonas de menor resistencia, con eventración, y dan origen a las saculaciones aneurismáticas propias de la retinopatía diabética.<sup>105,106</sup>

En la microangiopatía retiniana diabética, la ruptura de la barrera vascular permite el paso de lipoproteínas, fundamentalmente LDL, que se depositan en la retina y pueden glucosilarse *in situ*. La LDL glucosilada puede facilitar la trombosis de los vasos retinianos y tiene una acción tóxica sobre las células endoteliales de los capilares de la retina y sobre los pericitos.<sup>107</sup> Por otra parte, el edema retiniano es provocado por el efecto oncótico de las macromoléculas que se filtran y los factores de crecimiento angiogénicos, aumentan como respuesta a la hipoxia.<sup>105,108</sup> Se ha informado que los PFGA pueden aumentar la síntesis del factor de crecimiento vasculoendotelial por los endotelios retinianos.<sup>109,110</sup>

## NEFROPATÍA

Las concentraciones de PFGA circulantes en los individuos diabéticos depende, por un lado, de la medida de su formación debido al tiempo de exposición prolongada a la hiperglucemia y por otro, de la capacidad de aclaramiento renal, así, el nivel de PFGA en plasma en estos sujetos se correlaciona con el valor y el aclaramiento de creatinina. Los niveles de PFGA son más elevados, en particular, en aquellos enfermos que tienen una nefropatía diabética avanzada,<sup>62,111</sup> y en ellos se aprecia, además, un importante incremento de la enfermedad cardiovascular, lo que podría explicarse por la acción proaterosclerótica de los PFGA.<sup>112,113</sup>

Los receptores de PFGA han sido detectados en cultivos de tejido de células mesangiales e *in vivo*, por inmunohistoquímica, en una alta concentración en los

glomérulos de los sujetos diabéticos.<sup>48,114,115</sup> *Sakai* y otros han demostrado en biopsias renales de este tipo de paciente, el depósito de PFGA en el glomérulo, el mesangio, las células tubulares y la pared de los vasos glomerulares, y una correlación entre el grado de depósito con la severidad de la lesión.<sup>116</sup>

Las características principales de la glomerulopatía diabética son la proteinuria, la expansión mesangial y la esclerosis focal, y se han descrito diversos mecanismos mediante los cuales los PFGA intervienen en el surgimiento del daño renal como, su efecto citotóxico sobre las células endoteliales y mesangiales del glomérulo, las modificaciones estructurales y funcionales del colágeno tipo IV, y el aumento de la tasa de síntesis de este nivel renal.<sup>117,118</sup>

En los pacientes diabéticos con hiperglucemia crónica, está aumentada la filtración de albúmina debido, en parte, a la pérdida de la carga negativa de la lámina propia interna de la membrana basal glomerular y a la afectación de la lámina densa de esta misma membrana, provocada por la glucosilación de las fibras de proteína de esta última lámina.<sup>102,119,120</sup> De alguna manera, la alteración de la laminina (proteína estructural dominante de la matriz extracelular) por los PFGA, provoca trastornos en el autoensamblaje de la membrana basal glomerular, lo que compromete, a su vez, la integración a esta superestructura de los otros componentes principales del andamiaje molecular que la forman como, el colágeno tipo IV y los proteoglucanos, sobre todo, el heparán sulfato. Este proteoglucano es precisamente la molécula clave, en lo que respecta a proporcionar la carga negativa a la membrana basal glomerular, por lo que su escasez en esta estructura es la principal responsable de la aparición de la hiperfiltración de las proteínas plasmáticas y, en consecuencia, de la microalbuminuria que ocurre en la nefropatía diabética.<sup>102,119-121</sup>

Por otro lado, las células endoteliales de las capilares glomerulares fagocitan PFGA, en particular, albúmina glucosilada, y los transfieren hacia el mesangio, donde estos productos alteran profundamente la capacidad contráctil y fagocítica de las células mesangiales. Como consecuencia de esto, aumenta la acumulación de matriz mesangial y debido a ello se engruesa la membrana basal de los capilares glomerulares y se produce un lento "estrangulamiento" de estos, lo que, finalmente, disminuye la capacidad renal de filtración glomerular y comienza con ello la insuficiencia renal.<sup>101,119,120-123</sup>

Estructuralmente, con el microscopio óptico se observan, en una primera etapa de la enfermedad, lesiones difusas, que se presentan como acumulación de una sustancia amorfa en la pared de los capilares glomerulares y en el mesangio, que se tiñe con el ácido periódico de Schiff y, posteriormente, estas lesiones evolucionan agrupándose y formando nódulos, lo que constituye la forma nodular de la enfermedad renal diabética, descrita por primera vez por *Kimmelstiel* y *Wilson*, en 1936, que se ha dicho es patognomónica de la diabetes mellitus.<sup>124,125</sup>

## **PRODUCTOS FINALES DE LA GLUCOSILACIÓN AVANZADA, ATROSCLEROSIS Y DIABETES MELLITUS**

La aterosclerosis es un fenómeno íntimamente ligado a la patogenia de la macroangiopatía diabética y sus consecuencias clínicas, como la cardiopatía isquémica, la arteriopatía periférica y la enfermedad cerebrovascular.<sup>126,127</sup> Tradicionalmente, se le ha atribuido una gran responsabilidad a los trastornos lipídicos que ocurren en la diabetes mellitus, en el origen de la aterosclerosis severa que manifiestan los diabéticos; sin embargo, hoy se conoce que el aumento de

---

VLDL, IDL y LDL que tienen estos sujetos, no es el único responsable del surgimiento del proceso aterosclerótico que aquejan, sino que el incremento del estrés oxidativo y de los PFGA también tiene un papel protagónico en la patogenia de la aterosclerosis del diabético.<sup>127-129</sup>

Se sabe que el colágeno glucosilado de la pared arterial puede atrapar las LDL de forma definitiva y entonces, estas se acumulan en la subíntima, donde sufren oxidación y posterior fagocitosis por los macrófagos residentes, que se van convirtiendo así progresivamente en células espumosas, principal componente del núcleo de las placas de ateroma. Al mismo tiempo, la LDL oxidada produce activación de la célula endotelial y como consecuencia, esta última comienza a sintetizar matriz extracelular, lo que favorece la aparición del componente fibrótico de la placa aterosclerótica. Por otra parte, la activación de los monocitos macrófagos por los PFGA a través de receptores-PFGA, ocasiona que estos incrementen su síntesis de citoquinas proinflamatorias que contribuyen a aumentar el daño vascular, lo cual favorece la aterogénesis.<sup>130-132</sup>

Varios estudios clínicos han demostrado que los niveles de LDL-PFGA en suero se hallan muy elevados en los individuos diabéticos y que puede afectarse tanto el componente lipídico como el proteico de las LDL.<sup>133,134</sup> Así, en el caso de los diabéticos, los apo-PFGA son dos veces más frecuentes que en individuos no diabéticos, y se ha descrito la glucosilación de la apo B<sub>100</sub>, las apo A y las apo E.<sup>18</sup>

En lo que respecta a la HDL, se ha comprobado que la magnitud de la activación de la lecitina colesterol aciltransferasa (LCAT) por la apo A-I glucosilada es inferior a la que se produce por la apo A-I nativa. Esto interfiere en el transporte reverso de colesterol, del cual es responsable la HDL, lo que implicaría una disminución del retorno del colesterol al hígado, quedando entonces una mayor cantidad circulante de este, que puede depositarse en las paredes arteriales.<sup>18</sup> Asimismo, la glucosilación de la LDL disminuye su captación hepática, aumentando consecuentemente su nivel y tiempo de circulación en el plasma, y su poder aterogénico.<sup>135,136</sup>

## **PREVENCIÓN DE LOS EFECTOS PERJUDICIALES DE LOS PRODUCTOS FINALES DE LA GLUCOSILACIÓN AVANZADA**

Se han realizado diversas investigaciones encaminadas a la búsqueda de medidas terapéuticas dirigidas a contrarrestar la formación de los PFGA, así como sus efectos perjudiciales sobre los tejidos del organismo. Evidentemente, la forma más efectiva de disminuir el proceso de glucosilación y la formación de PFGA radica en el alcance de un control glucémico óptimo y, por otro lado, también es importante lograr un perfil lipídico adecuado mediante la indicación de medidas dietéticas y(o) farmacológicas.

Una estrategia posible consiste en evitar el avance de la cascada de reacciones que dan lugar a los PFGA, más allá del surgimiento de la base de Schiff, lo que conllevaría al bloqueo de la formación de los compuestos carbonílicos altamente reactivos, como el producto de Amadori y las especies reactivas dicarbonílicas, que aparecen durante las primeras etapas de la glucosilación.<sup>24</sup> Los derivados hidracínicos han sido los agentes farmacológicos a los que se les ha encontrado una mayor efectividad en este sentido y, de ellos, el más conocido y eficaz es la aminoguanidina, cuya estructura y propiedades fueron descritas por primera vez en 1986 por *Brownlee*.<sup>62,137,138</sup>

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.<sup>137,138</sup>

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.<sup>139,140</sup> En el riñón, evita el incremento y la acumulación de PFGA, el aumento del volumen mesangial y del grosor de la membrana basal glomerular, y previene la excreción urinaria de albúmina.<sup>104,141,142</sup> Por su parte, con el uso de la aminoguanidina en animales de experimentación, se ha logrado mejorar la velocidad de la conducción nerviosa de las fibras sensitivas y motoras y con ello su excitabilidad, además, mejorar la amplitud de los potenciales de acción de los nervios periféricos y evitar la atrofia axonal.<sup>143,144</sup>

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.<sup>131,145</sup> Por otra parte, la aminoguanidina es capaz de bloquear la acción de la enzima aminooxidasa semicarbazida-sensible, que cataliza la desaminación de la metilamina, dando como productos finales formaldehído y peróxido de hidrógeno. La actividad de esta enzima se encuentra aumentada en los sujetos con DM y en aquellos con hepatopatías; y los PFGA de la reacción en la que intervienen se han reconocido como citotóxicos y causantes de daño en las células endoteliales.<sup>146</sup> Es conocido que el formaldehído es un agente fijador de proteínas, capaz de inducir el entrecruzamiento de sus cadenas polipeptídicas constituyentes mediante la formación de puentes de metileno, lo que provoca cambios estructurales significativos en estas. El aumento de la producción de formaldehído y su elevación en sangre, pudiera ser un factor más que propicie el endurecimiento de los vasos sanguíneos observados en los diabéticos.

Asimismo, la aminoguanidina también se ha empleado para tratar la amiloidosis asociada con el tratamiento hemodialítico, en el caso de los individuos diabéticos o no que padecen una insuficiencia renal crónica, porque se ha demostrado que en la patogenia de esta complicación renal está implicada la acumulación de un PFGA, como la beta-2-microglobulina-PFGA, en el colágeno y otros tejidos.<sup>147</sup>

También, en cuanto a terapéutica, se ha precisado la capacidad antiglicosilante de otros compuestos, entre los que se encuentran, la D-lisina, que se ha comprobado que disminuye la glucosilación del colágeno e inhibe la polimerización de las proteínas glucosiladas,<sup>148,149</sup> y la morfolinoetil aminoguanidina, un derivado de la aminoguanidina.<sup>150</sup> Asimismo, constituye un hecho relativamente reciente el descubrimiento de las amadorinas, moléculas capaces de bloquear, mediante un mecanismo diferente al descrito para la aminoguanidina, la conversión de los productos de Amadori en PFGA, constituyendo la piridonina, un análogo de la vitamina B<sub>6</sub>, la más potente de estas sustancias.<sup>151</sup>

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.<sup>127</sup>

## **CONSIDERACIONES FINALES**

Los PFGA desempeñan un papel importante en el desarrollo de las complicaciones microvasculares y macrovasculares en el sujeto diabético. La glucosilación no enzimática puede afectar por sí misma tanto a las proteínas como a los lípidos y al ADN del organismo, pero también esto puede ocurrir por medio del incremento del estrés oxidativo que la acompaña. El logro de un control metabólico estricto de la glucemia ha sido clásicamente la mejor medida para evitar la aparición de las complicaciones, en general, en el estado diabético. En la actualidad, la terapéutica farmacológica con agentes que inhiben la formación de PFGA o tienen acción antioxidante, constituye otra alternativa terapéutica para la prevención y solución del problema de las complicaciones crónicas de la DM.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Home P. Contributions of basal and post-prandial hyperglycemia to micro- and macrovascular complications in people with type 2 diabetes. *Curr Med Res Opin.* 2005;21:989-98.
2. Ceriello A. Mechanisms of tissue damage in the postprandial state. *Int J Clin Pract (Suppl).* 2001;123:7-12.
3. Yamagishi S, Imaizumi T. Diabetic vascular complications: pathophysiology, biochemical basis and potential therapeutic strategy. *Curr Pharm Dis.* 2005;11:2279-99.
4. Sudhir R, Mohan V. Postprandial hyperglycemia in patients with type 2 diabetes mellitus. *Treat Endocrinol.* 2002;1:105-16.
5. DCCT Research Group. The effects of intensive diabetes management on macrovascular events and risk factors in the diabetes control and complications trial. *Am J Cardiol.* 1995;75:894-903.

6. Diabetes Control and Complication Trial Research Group (DCCT). The effect of the intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 1993;329:977-86.
7. Jakus V, Rietbrock N. Advanced glycation end-products and the progress of diabetes complications. *Physiol Res.* 2004;53:131-42.
8. Rojas A, Morales MA. Advanced glycation and endothelial functions: a link toward the complications in diabetes. *Life Sci.* 2004;76:715-30.
9. Wen Y, Skidmore JC, Porter-Turner MM, Rea CA, Khokher MA, Singh BM. Relationship of glycation, antioxidant status and oxidative stress to vascular endothelial damage in diabetes. *Diabetes Obes Metab.* 2002;45:305-8.
10. Wantier JL, Guillausseau RJ. Advanced glycation end products, their receptors and diabetic angiopathy. *Diabetes Metab.* 2003;29:86-7.
11. Kalousova M, Zima T, Tesar V, Dusilova-Sulkova S, Skrha J. Advanced glycoxidation end products in chronic diseases-clinical chemistry and genetic background. *Mutat Res.* 2005;579:37-46.
12. Setter SM. Biochemical Pathways for microvascular complications of diabetes mellitus. *Ann Pharmacother.* 2003;37:1858-66.
13. Actis SM, Rebolledo OR. La glicación y glicooxidación de las lipoproteínas. Su importancia en la diabetes mellitus. *Rev Med Buenos Aires.* 2000;60:645-6.
14. Valdiguié P. Fisiopatología de las complicaciones reumatológicas de la diabetes. *L'Observatoire du Mouvement.* 2006;7:1-3.
15. Sera RA, García M, Moreira R. Glicación de proteínas como elemento esencial en las complicaciones crónicas de la diabetes mellitus. *Rev Cis Méd La Habana.* 2001;7:1-9.
16. Obregón O, Vecchionacce H, Brito S, Lares M, Castro J, Ramírez X, et al. Efecto antiglicosilante de las vitaminas E y C. *Arch Venez Farmacol Terap.* 2005;24:1-10.
17. Soca PEM, Bahr AP, Niño S. Mecanismos moleculares del daño microvascular de la diabetes mellitus. *Correo Cientif Méd Holguín.* 2004;8:1-11.
18. Gebel E. A hypothesis for the AGEs. Exploring the link between high blood glucose and diabetes complications. *Diabetes Forecast.* 2010;63(2):52-5.
19. Méndez JD, Xie J, Aguilar M, Méndez V. Trends in advanced glycation end products research in diabetes mellitus and its complications. *Mol Cell Biochem.* 2010. [citado 15 Jun 2010]. Disponible en: <http://www.springerlink.com/content/wmg173j7w459u483/>
20. Ahmed N, Babaei-Jodidi R, Howell SK, Beisswenger PJ, Thornalley PJ. Degradation products of proteins damaged by glycation, oxidation and nitration in clinical type 1 diabetes. *Diabetologia.* 2005;48:1590-603.
21. Yim MB, Yim HS, Lee C, Kang SO, Chock PB. Protein glycation: creation of catalytic sites for free radical generation. *Ann NY Acad Sci.* 2001;928:48-53.

22. Vlassara H, Palace MR. Diabetes and advanced glycation endproducts. *Intern Med.* 2002;25:87-101.
23. Bonnefont-Rousselot D. Glucose and reactive oxygen species. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2002;5:561-8.
24. González L, Castello PR, Gagliardino JJ, Rossi JPFC. La glicación de las proteínas y su participación en las enfermedades humanas. *Acta Bioq Clín Latinoamer.* 2000;10:1-5.
25. Lapolla A, Basso E, Traldi P. Mass spectrometry of advanced glycation end products. *Adv Clin Chem.* 2005;40:165-217.
26. Lapolla A, Reitano R, Seraglia R, Sartore G, Ragazzi E, Traldi P. Evaluation of advanced glycation end products and carbonyl compounds in patients with different conditions of oxidative stress. *Mol Nutr Food Res.* 2005;49:685-90.
27. Allen DW, Schneider WA, Balog J. Observation on the chromatographic heterogeneity of normal adult and fetal hemoglobin: A study of the effects of crystallization and chromatography in the heterogeneity and isoleucine. *Am Chem Soc.* 1958;83:1472-8.
28. Ezcurra EJ. Montaje y estandarización de la determinación calorimétrica de hemoglobina glicosilada. *Rev Cubana Med.* 1986;25:660-6.
29. Ezcurra EJ. La hemoglobina glicosilada y su importancia en la práctica asistencial e investigativa en el campo de la diabetes mellitus. Revisión bibliográfica. *Rev Cubana Med.* 1986;25:592-602.
30. Fluckinger R, Winterhalter KH. In vitro syntesis of hemoglobin A1c. *FEBS Lett.* 1976;71:356-60.
31. Ishibashi T, Kawaguchi M, Sugimoto K, Uekita H, Sakamoto N, Yokoyama K, et al. Advanced glycation end product-mediated matrix metalloproteinase-9 and apoptosis via renin-angiotensin system in type 2 diabetes. *J Atheroscler Thromb.* 2010 [citado 15 Jun 2010]. Disponible en: [http://www.jstage.jst.go.jp/article/jat/advpub/0/advpub\\_1003080196/article](http://www.jstage.jst.go.jp/article/jat/advpub/0/advpub_1003080196/article)
32. Ezcurra EJ. Evaluación de la dosificación de hemoglobina glicosilada en el diagnóstico precoz de la diabetes mellitus. *Rev Cubana Med.* 1987;26:466-70.
33. Ezcurra EJ. Correlación entre los niveles glucémicos y concentración de hemoglobina glicosilada en pacientes diabéticos. *Rev Cubana Med.* 1986;25:1097-103.
34. Sen S, Kar M, Roy A, Chakraborti AS. Effects of nonenzymatic glycation on functional and structural properties of haemoglobin. *Biophys Chem.* 2005;113:289-98.
35. Kinoshita S, Kanai H, Ikushima T, Sekiyama E, Yoneda K. Age-related alteration of visual function and its prevention. *Nippon Ronen Igakkai Zasshi.* 2004;41:604-6.
36. Monier VH, Cerami A. Nonenzymatic browning in vivo: possible role of aging in the long living proteins. *Science.* 1981;211:491-3.

37. Lyons TJ, Silvestry G, Dunn A, Dyer DG, Baynes JW. Role of glycation in modification of lens crystallins in diabetic and non-diabetic senile cataracts. *Diabetes*. 1991;40:1010-5.
38. Ramana KV, Friedrich B, Bhatnagar A, Srivastava SK. Aldose reductase mediates cytotoxic signals of hyperglycemia in human lens epithelial cells. *FASEB J*. 2003;17:315-7.
39. De Bernardini E, Tieri O, Possalla A, Luglio N. The chemical composition of the human aqueous humor in normal and pathological conditions. *Exp Eye Res*. 1965;4:179-86.
40. Kalousova M, Skrha J, Zima T. Advanced glycation end-products and advanced oxidation protein products in patients with diabetes mellitus. *Physiol Res*. 2002;51:597-604.
41. Wen Y, Skidmore JC, Porter-Turner MM, Rea CA, Khokher MA, Singh BM. Relationship of glycation, antioxidant status and oxidative stress to vascular endothelial damage in diabetes. *Diabetes Obes Metab*. 2002;4:305-8.
42. Ahmed N, Babaei-Jadidi R, Howell SK, Thornalley PJ, Beisswenger PJ. Glycated and oxidized protein degradation products are indicators of fasting and postprandial hyperglycemia in diabetes. *Diabetes Care*. 2005;28:2465-71.
43. Vlassara H, Palace MR. Glycooxidation: the menace of diabetes and aging. *MT Sinai J Med*. 2003;70:232-41.
44. Skrha J. Pathogenesis of angiopathy in diabetes. *Acta Diabetol*. 2003;40(Suppl 2):324-9.
45. Struder RK, Craven PA, Derubertis FR. Role of protein kinase C in mediation of increased fibronectin accumulation by mesangial cells grown in high glucose medium. *Diabetes*. 1993;42:118-26.
46. Haitoglou C, Tsilibary E, Brownlee M. Altered cellular interactions between endothelial cells and nonenzimatically glycosylated laminin/type IV collagen. *J Biol Chem*. 1992;267:1240-7.
47. Van Campenhout A, Van Campenhout CM, Lagrou AR, Keenoy B. Transferrin modifications and lipid peroxidation: implications in diabetes mellitus. *Free Radic Res*. 2003;37:1069-77.
48. Thomas MC, Forbes JM, Cooper ME. Advanced glycation end products and diabetic nephropathy. *Am J Ther*. 2005;12:562-72.
49. Sobenin IA, Tertov VV, Orekhov AN. Atherogenic modified LDL in diabetes. *Diabetes*. 1996;45(Suppl 3):35-9.
50. Davi G, Falco A, Patrono C. Lipid peroxidation in diabetes mellitus. *Antioxid Redox Signal*. 2005;7:256-68.
51. López-Virella MF, Klein RL, Virella G. Modification of lipoproteins in diabetes. *Diabetes Metab Rev*. 1996;12:69-90.

52. Taskinen MR. Quantitative and cualitative lipoprotein abnormalities in diabetes mellitus. *Diabetes*. 1992;41(Suppl 2):12-7.
53. Devaraj S, Hirany SV, Burk RF, Jialal I. Divergence between LDL oxidative susceptibility and urinary F(2)-isoprostanes as measures of oxidative stress in type 2 diabetes. *Clin Chem*. 2002;48:213.
54. Rebolledo OR, Actis-Dato SM. Postprandial hyperglycemia and hyperlipidemia-generated glycoxidative stress: its contribution to the pathogenesis of diabetes complications. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2005;9:191-208.
55. Davison GW, George L, Jackson SK, Young IS, Davies B, Bailey DM, et al. Exercise, free radicals, and lipid peroxidation in type 1 diabetes mellitus. *Free Radic Biol Med*. 2002;33:1543-51.
56. González FL, Castello PR, Caride AJ, Gagliardino JJ, Rossi IPFC. The erythrocyte calcium pump is inhibited by non-enzymatic glycation: studies in situ and with purified enzyme. *Biochem J*. 1993;293:369-75.
57. Kowluru RA, Heidorn DB, Edmondson SP, Bitensky MW, Kowluru A, Downer NW et al. Glycation of calmodulin: chemistry and structural and functional consequences. *Biochemistry*. 1989;28:2220-8.
58. Tanaguchi N, Kihoshito N, Arai K, Lizuka S, Usui M, Naito T. Inactivation of erythrocyte Cu-Zn-superoxide dismutase through nonenzymatic glycosylation. *Progr Clin Biol Res*. 1989;304:277-90.
59. Haneda M, Kikkawa R, Horide N, Togawa M, Koya D, Kajiwara N et al. Glucose enhanced type IV collagen production in cultured rat glomerular mesangial cells. *Diabetologia*. 1991;34:198-200.
60. Wellsknecht M, Thorpe S, Baynes J. Pathways of formation of glycoxidation products during glycation of collagen. *Biochemistry*. 1995;34:15134-41.
61. Pilotti T, Jadzinsky M. Prevención de microangiopatía diabética. *Rev ALAD*. 2003;11:49-61.
62. Cárdenas M, Díaz E, Argüelles R, Sánchez P, Díaz V, Larrea F. Glycation and protein crosslinking in the diabetes and ageing pathogenesis. *Rev Invest Clin*. 2009;61(6):505-20.
63. Vlassara H. Advanced glycation end-products and atherosclerosis. *Ann Med*. 1996;28:419-26.
64. Waitier JL, Guillausseau PJ. Diabetes, advanced glycation end-products and vascular disease. *Vasc Med*. 1998;3:131-7.
65. Federici M, Lauro R. Review article: diabetes and atherosclerosis-running on a common road. *Aliment Pharmacol Ther*. 2005;22(Suppl 2):11-5.
66. Komosinska-Vasser K, Olczyk P, Winsz-Szczotka K. Effects of metabolic control and vascular complications on indices of oxidative stress in type 2 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract*. 2005;68:207-16.

67. Martin-Gallan P, Carrascosa A, Gussinye M, Domínguez C. Biomarkers of diabetes-associated oxidative stress and antioxidative status in young diabetic patients with or without subclinical complications. *Free Radic Biol Med.* 2003;34:1563-74.
68. Thornalley PJ. Glycation in diabetic neuropathy: characteristics, consequences, causes, and therapeutic options. *Int Rev Neurobiol.* 2002;50:37-57.
69. Dickinson PJ, Carrington AL, Frost GS, Boulton AJ. Neurovascular disease, antioxidants and glycation in diabetes. *Diabetes Metab Res Rev.* 2002;18:260-72.
70. Martínez-Conde A, Paredes CM, Zacarías R. Neuropatía diabética. *Rev Hosp Gral Dr. M. Gea González.* 2002;5:7-23.
71. Wada R, Yagihashi S. Role of advanced glycation end products and their receptors in development of diabetic neuropathy. *Ann NY Acad Sci.* 2005;1043:598-604.
72. Duby JJ, Campbell RK, Setter SM, White JR, Rasmussen KA. Diabetic neuropathy: an intensive review. *Am J Health Syst Pharm.* 2004;61(2):160-73.
73. Blasiak J, Arabski M, Krupa R, Wozniak K, Zadrozny M, Drzewoski J, et al. DNA damage and repair in type 2 diabetes mellitus. *Mutat Res.* 2004;554:297-304.
74. Southan GJ, Szabo C. Poly (ADP-ribose) polymerase inhibitors. *Curr Med Chem.* 2003;10:321-40.
75. Persson B. Prevention of fetal malformation with antioxidants in diabetic pregnancy. *Pediatr Res.* 2001;49:755-62.
76. Cervantes-Laurean D, Jacobson EL, Lacobson MK. Glycation and glycooxidation of histones by ADP-ribose. *J Biol Chem.* 1996;271:10461-9.
77. Gugliucci A, Bendayan M. Histones from diabetic rats contain increased levels of advanced glycation products. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995;212:56-62.
78. Vlassara H. The AGE-receptor in the pathogenesis of diabetic complications. *Diabetes Metab Res Rev.* 2001;17:436-43.
79. Vlassara H, Brownlee M, Cerami A. High-affinity-receptor-mediated uptake and degradation of glucose-modified proteins: A potential mechanism for the removal of senescent macromolecules. *Proc Natl Acad Sci.* 1985;82:5588-92.
80. Vlassara H. Receptor mediated interactions of advanced glycosylation end products with cellular components within diabetic tissues. *Diabetes.* 1992;41(Suppl. 2):52-6.
81. Vlassara H, Brownlee R, Cerami A. Specific macrophage receptor activity for advanced glycosylation end products inversely correlates with insulin levels in vivo. *Diabetes.* 1988;37:456-61.
82. Ramasamy R, Yan F, Schmidt AM. The RAGE axis and endothelial dysfunction: maladaptive roles in the diabetic vasculature and beyond. *Trends Cardiovasc Med.* 2005;15:237-43.

83. Yan S, Stern D, Schmidt A. What 's the RAGE? The receptor of advanced glycation end products (RAGE) and the dark side of glucose. *Eur J Clin Invest.* 1997;27:179-81.
84. Sakai M, Oimomi M, Kasuga M. Experimental studies on the role of fructose in the development of diabetic complications. *Kobe J Med Sci.* 2002;48:125-36.
85. Makita Z, Vlassara H, Rayfield E, Cartwright K, Friedman E, Rodby R, et al. Haemoglobin-AGE: a circulating marker for advanced glycosylation. *Science.* 1992;258:651-3.
86. Djordjevic A, Spasic S, Javanovic-Galovic A, Djordjevic R, Grubor-Lajsic G. Oxidative stress in diabetic pregnancy: SOD, CAT and GSH-Px activity and lipid peroxidation products. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2004;16:367-72.
87. Lipinski B. Pathophysiology of oxidative stress in diabetes mellitus. *J Diabetes Complication.* 2001;15:203-10.
88. Niedowicz DM, Daleke DL. The role of oxidative stress in diabetic complications. *Cell Biochem Biophys.* 2005;43:289-330.
89. Al-Dallen SM, Chávez T, Martínez G, Ferreira E, León OS. El equilibrio Redox en la diabetes y sus complicaciones. *Acta Farm Bonaerense.* 2004;23:231-42.
90. Maritin AC, Sanders RA, Watkins JB. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem Mol Toxicol.* 2003;17:24-38.
91. West IC. Radicales y estrés oxidativo en diabetes. *Diabet Med.* 2000;17:171-80.
92. Pennathur S, Heinecke JW. Mechanisms of oxidative stress in diabetes: implications for the pathogenesis of vascular disease and antioxidant therapy. *Front Biosci.* 2004;9:565-74.
93. Thomas SR, Chen K, Keaney JF. Oxidative stress and endothelial nitric oxide bioactivity. *Antioxid Redox Signal.* 2003;5:181-94.
94. Cohen RA. Role of nitric oxide in diabetic complications. *Am J Ther.* 2005;12:499-502.
95. Endemann DH, Schiffrin EL. Nitric oxide, oxidative excess and vascular complications of diabetes mellitus. *Curr Hypertens Rep.* 2004;6:85-9.
96. Ceriello A. Nitrotyrosine: new findings as a marker of postprandial oxidative stress. *Int J Clin Pract.* 2002;129(Suppl):51-8.
97. Ceriello A, Quagliaro L, Catone B, Pascon R, Piazzola M, Bais B, et al. Role of hyperglycemia in nitrotyrosine postprandial generation. *Diabetes Care.* 2002;25:1439-43.
98. Sindhu RK, Koo JR, Roberts CK, Vaziri ND. Dysregulation of hepatic superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in diabetes: response to insulin and antioxidant therapies. *Clin Exp Hypertens.* 2004;26:43-53.

99. Aydin A, Orhan H, Sayal A, Ozata M, Sahin G, Isimer A. Oxidative stress and nitric oxide related parameters in type II diabetes mellitus: effects of glycemic control. *Clin Biochem.* 2001;34:65-70.
100. Suji G, Sivakami S. Glucose, glycation and aging. *Biogerontology.* 2004;5:365-73.
101. Forbes JM, Cooper BE, Oldfield MD, Thomas MC. Role of advanced glycation end products in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2003;148(Suppl 3):254-8.
102. Bohlender J, Franke S, Stein G, Wolf G. Advanced glycation end products and the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2005;289:F45-59.
103. Lyons TJ. Glycation, carbonyl stress, EAGLEs, and the vascular complications of diabetes. *Semin Vasc Med.* 2002;2:175-89.
104. Heidland A, Sebekova K, Schinzel R. Advanced glycation end products and the progressive course of renal disease. *Am J Kidney Dis.* 2001;38(Suppl 1):S100-6.
105. Funatsu H, Yamashita H. Pathophysiology of diabetic retinopathy. *Drug News Perspect.* 2002;15:633-9.
106. Kowluru RA. Diabetes-induced elevations in retinal oxidative stress, protein kinase C and nitric oxide are interrelated. *Acta Diabetol.* 2001;38:179-85.
107. Gupta MM, Chari S. Lipid peroxidation and antioxidant status in patient with diabetic retinopathy. *Indian J Physiol Pharmacol.* 2005;49:187-92.
108. Van Reyk DM, Gillies MC, Davies MJ. The Retina: oxidative stress and diabetes. *Redox Rep.* 2003;8:187-92.
109. Yokoi M, Yamagishi SI, Takeuchi M, Ohgami K, Okamoto T, Saito W, et al. Elevations of AGE and vascular endothelial growth factor with decreased total antioxidant status in the vitreous fluid of diabetic patients with retinopathy. *Br J Ophthalmol.* 2005;89:673-5.
110. Caldwekk RB, Bartoli M, Behzadian MA, El-Remessy AE, Al-Shabrawey M, Platt DH, et al. Vascular endothelial growth factor and diabetic retinopathy: role of oxidative stress. *Curr Drug Targets.* 2005;6:511-24.
111. Sebekova K, Podracka L, Blazicek P, Syrova D, Heidland A, Schinzel R. Plasma levels of advanced glycation end products in children with renal disease. *Pediatr Nephrol.* 2001;16:1105-12.
112. Czekalski S. Diabetic nephropathy and cardiovascular diseases. *Rocz Akad Med Bialymst.* 2005;50:122-5.
113. Schnakenberg CG. Oxygen radicals in cardiovascular-renal disease. *Curr Opin Pharmacol.* 2002;2:121-5.
114. Elbert A. Desde la patogenia a la clínica. *Rev ALAD.* 2004;XII:98-113.

115. Forbes JM, Cooper ME, Thallas V, Burns WC, Thomas MC, Brammar GC, et al. Reduction of the accumulation of advanced glycation end products by ACE inhibition in experimental diabetic nephropathy. *Diabetes*. 2002;51:3274-82.
116. Sakai H, Jinde K, Suzuki D, Yagame M, Nomoto Y. Localization of glycated proteins in glomeruli of patients with diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transpl*. 1996;11:66-71.
117. Macía M, Macía M, Coronel F. Nefropatía diabética: fisiología y curso. *Nefrología*. 2001;XXI:24-31.
118. Ugarte F, Carranza C. Nefropatía diabética. *Rev Chil Pediatr*. 2002;73:455-60.
119. Olmos P, Gatica MP, Arriaga P. Proteínas Glicosiladas en la Fisiopatología de la Neuropatía Diabética. *Bol Ética Clin*. 1998;27:1-8.
120. Beisswenger PJ, Drummond KS, Nelson RG, Howell SK, Szwegold BS, Mauer M. Susceptibility to diabetic nephropathy is related to dicarbonyl and oxidative stress. *Diabetes*. 2005;54:3274-81.
121. Catherwood MA, Powell LA, Anderson P, McMaster D, Sharpe PC, Trimble ER. Glucose-induced oxidative stress in mesangial cells. *Kidney Int*. 2002;61:599-608.
122. Ha H, Lee HB. Oxidative stress in diabetic nephropathy: basic and clinical information. *Curr Diab Rep*. 2001;1:282-7.
123. Lal MA, Brisman H, Eklof AC, Aperia A. Role of oxidative stress in advanced glycation end product-induced mesangial cell activation. *Kidney Int*. 2002;61:2006-14.
124. Kikkawa R, Koya D, Haneda M. Progression of diabetic nephropathy. *Am J Kidney Dis*. 2003;41(Suppl 1):S19-21.
125. Cooper ME. Interaction of metabolic and haemodynamic factors in mediating experimental diabetic nephropathy. *Diabetologia*. 2001;44:1957-72.
126. Yamagishi S, Nakamura K, Takeuchi M, Imaizumi T. Molecular mechanism for accelerated atherosclerosis in diabetes and its potential therapeutic intervention. *Int J Clin Pharmacol Res*. 2004;24:129-34.
127. Ceriello A. La "memoria metabólica" inducida por la hiperglucemia: el nuevo reto en la prevención de la enfermedad cardiovascular en la diabetes. *Rev Esp Cardiol*. 2008;8(Supl C):12-8.
128. Rosen P, Du X, Sui GZ. Molecular mechanism of endothelial dysfunction in the diabetic heart. *Adv Exp Med Biol*. 2001;498:75-86.
129. Duckworth WC. Hyperglycemia and cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep*. 2001;3:383-91.
130. Aronson D, Rayfield EJ. How hyperglycemia promotes atherosclerosis: molecular mechanisms. *Cardiovasc Diabetol*. 2002;1:1-5.
131. Thomas MC, Baynes JW, Thorpes SR, Cooper ME. The role of AGEs and AGE inhibitors in diabetic cardiovascular disease. *Curr Drug Targets*. 2005;6:453-74.

132. Dandona P, Aljada A. A rational approach to pathogenesis and treatment of type 2 diabetes mellitus, insulin resistance, inflammation, and atherosclerosis. *Am J Cardiol.* 2002;90:27G-33G.
133. Yu Y, Lyons TJ. A lethal tetrad in diabetes: hyperglycemia, dyslipidemia, oxidative stress, and endothelial dysfunction. *Am J Med Sci.* 2005;330:227-32.
134. Davi G, Falco A. Oxidant stress, inflammation and atherogenesis. *Lupus.* 2005;14:760-4.
135. Peppas M, Uribarri J, Vlassara H. Advanced glycoxidation. A new risk factor for cardiovascular disease? *Cardiovascular Toxicol.* 2002;2:275-87.
136. Miyata T. Alterations of non-enzymatic biochemistry in uremia, diabetes and atherosclerosis («carbonyl stress»). *Bull Mem Acad R Med Belg.* 2002;157:189-96.
137. Brownlee M. Advanced protein glycosylation in diabetes and aging. *Annu Rev Med.* 1995;46:223-34.
138. Brownlee M, Vlassara H, Kooney A, Ulrich P, Cerami A. Aminoguanidine prevents diabetes-induced arterial wall protein cross-linking. *Science.* 1986;232:1629-32.
139. Du Y, Smith MA, Miller CM, Kern TS. Diabetes-induced nitrosative stress in the retina, and correction by Aminoguanidine. *J Neurochem.* 2002;80:771-9.
140. Hammes H, Strodter D, Weiss A, Bretzel R, Federlin K. Secondary intervention with Aminoguanidine retards the progression of diabetic retinopathy in the rat model. *Diabetologia.* 1995;38:656-60.
141. Soulis-Liparota T, Cooper M, Papazoglou D, Clarke B, Jerums G. Retardation by aminoguanidine of development of albuminuria, mesangial expansion and tissue fluorescence in streptozotocin-induced diabetic rat. *Diabetes.* 1991;40:1328-35.
142. Edelstein D, Brownlee M. Aminoguanidine ameliorates albuminuria in diabetes hypertensive rats. *Diabetologia.* 1992;35:96-7.
143. Kihara M, Schmelzer JD, Poduslo JF, Curran GL, Nicklander KK, Low PA. Aminoguanidine effects on nerve blood flow, vascular permeability, electrophysiology, and oxygen free radicals. *P Natl Acad Sci USA.* 1991;85:6107-11.
144. Cameron EN, Cotter MA, Diner K, Love A. Effects of Aminoguanidine on peripheral nerve function and polyol pathway metabolites in streptozotocin- diabetic hypertensive rats. *Diabetologia.* 1992;35:946-50.
145. Picard S, Parathasarathy S, Fruebis J, Witzim JL. Aminoguanidine inhibits oxidative modification of low density lipoprotein and the subsequent increase in uptake by macrophage scavenger receptors. *P Natl Acad Sci USA.* 1992;89:6876-80.
146. Yu PH, Zuo DM. Aminoguanidine inhibits semicarbazide-sensitive amine oxidase activity: implications for advanced glycation and diabetic complications. *Diabetologia.* 1997;40:1243-50.

147. Fan H, Boyce J, Cherton G, Kay J, Owen W. Aminoguanidine inhibits advanced glycation end products formation on beta 2 microglobulin. *J Nephrol.* 1998;9:277-83.
148. Sensi M, Pricci F, De Rossi MG, Morano S, Marlo M. D-lysine effectively decreases the nonenzymic glycation of protein *in vitro*. *Clin Chem.* 1989;35:384-7.
149. Eble A, Thorpe SR, Baynes JW. Nonenzymatic glycosylation and glucose-dependent cross-linking of protein. *J Biol Chem.* 1983;258:9403-12.
150. Mallon VM, Ulrich PC, Boyd TA, Miyachi T, Yamin MN. [2-(4 morpholino) ethyl] N aminoguanidine (MEAG) inhibit AGE formation in vitro and diabetes changes in STZ diabetic rats without inhibiting diamine oxidase (DAD) in nitric oxide synthetase (NDS). *Diabetes.* 1993;42(Suppl 1):106.
151. Khalifah RG, Baynes JW, Hudson BG. Amadorins: novel postamadori inhibitors of advanced glycation reactions. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999;257:251-8.

Recibido: 29 de marzo de 2010.

Aprobado: 11 de mayo de 2010.

Dr. *Jeddú Cruz Hernández*. Hospital Ginecoobstétrico Docente "América Arias".  
Línea y G, Vedado. Plaza de la Revolución. Ciudad de La Habana, Cuba. Teléf.: 832-13-23. Correo electrónico: [celsocruz@infomed.sld.cu](mailto:celsocruz@infomed.sld.cu)