

La glicosilación no enzimática: una vía común en la diabetes y el envejecimiento

Non-enzymatic glycation: a common pathway for diabetes and aging

La Diabetes Mellitus (DM) es un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por un estado de hiperglucemia crónica que conduce, entre otras manifestaciones, a un envejecimiento prematuro y acelerado, tanto de la piel como de órganos internos.

Este aumento persistente de la glucosa en sangre acelera la reacción entre azúcares y otras moléculas como las proteínas, los lípidos y los ácidos nucleicos produciendo modificaciones por reducción de azúcares llamada Glicosilación no enzimática (GNE), o más recientemente denominada glicación. Ésta resulta en la formación de productos finales de la glicosilación avanzada (AGEs), que se entrecruzan irreversiblemente con muchas macromoléculas tales como el colágeno.

Algunos AGEs están claramente relacionados con el control de la glucemia, mientras que otros se modifican además con la edad. En un estudio de biopsias de piel de pacientes diabéticos, se extrajeron gran cantidad de algunos productos finales de la glicosilación no enzimática avanzada, cuyos altos niveles se correlacionaron con retinopatía, nefropatía y limitación de la movilidad articular.

Por eso se cree en la actualidad que los elevados niveles séricos de AGEs son responsables tanto de la inducción como de la progresión de complicaciones microvasculares asociadas a la diabetes, estudiados en pacientes diabéticos tipo 1 (preescolares, prepuberales, puberales, adolescentes y adultos jóvenes) comparados con controles sanos.

La glicosilación de proteínas puede resultar, entre otras acciones, en: cataratas, hipertensión arterial, disminución de la contractilidad del miocardio, enfermedad renal.

La GNE ha sido estudiada sistemáticamente desde principios de siglo (Maillard, 1912) a partir de su aplicación en la industria alimentaria para el mejoramiento del aspecto y el sabor de los alimentos. Se pone en marcha para disminuir el azúcar aunque ocurre, en menor medida, con niveles de glucemia normales como en el envejecimiento fisiológico.

Desde el punto de vista químico, la glicación consiste en la unión de grupos amino primarios de aminoácidos, péptidos y proteínas con el grupo carbonilo de los azúcares reductores, de los cuales la glucosa es el más abundante en el organismo. A > hiperglucemia > reacción.

La glicación consta de 3 etapas:

- *La primera es la formación de la base de Schiff por contacto del azúcar reductor con la proteína en un tiempo corto de horas.*
- *En el segundo paso, por reordenamiento del compuesto anterior que es inestable, se forma el producto de Amadori que son cetoaminas más estables. La reacción de Amadori es reversible y ocurre en un tiempo aproximado de días a semanas.*
- *La interrupción del contacto del azúcar con la proteína en cualquiera de estas 2 etapas produce la reversión completa del efecto.*
- *Por último se produce la reacción tardía de Maillard, irreversible y más lenta, en la que se forman los productos finales de la glicosilación no enzimática avanzada o AGEs de color amarronado, con estructura imidazólica, pirrólica y otras (iminas, furanos, piridinas, etc).*

Hay trabajos en los que, debido a su fluorescencia, se han detectado los AGEs en la piel. Más aún, su medición permitió establecer que hay correlación entre el grado de fluorescencia y los cambios cutáneos.

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

Un ejemplo es la GNE de la hemoglobina cuyo producto, la hemoglobina glicosilada (HbA1c), se ha convertido en un parámetro standard de diagnóstico de la diabetes debido a que denota la producción de AGEs, lo que a su vez se correlaciona con el exceso de azúcares en sangre. Indudablemente un estricto control de la glucemia disminuye los niveles de AGEs y de HbA1c.

Los AGEs se acumulan en el interior de las células insulino-dependientes y fuera de ellas, sobre todo en las proteínas de las membranas basales, en las proteínas circulantes y en las proteínas estructurales como el colágeno. A medida que pasa el tiempo, la acumulación de AGEs a nivel tisular aumenta, contribuyendo a la senescencia de muchos órganos corporales incluida la piel.

La GNE del colágeno, una proteína estructural de la piel de bajo recambio, resulta en la formación del colágeno-AGE o colágeno glicosilado, que es distinto gracias al aumento del entrecruzamiento y disminución de la solubilidad. Es así que se alteran sus propiedades mecánicas, con pérdida de la elasticidad y fuerza tensora al mismo tiempo que se incrementa la rigidez, lo que determina la pérdida de su funcionalidad. Todos estos cambios de las características del colágeno lo hacen más resistente a la digestión por colagenasas, por lo cual en vez de degradarse como es natural, se acumula y origina el engrosamiento cutáneo, que es una de las complicaciones de la diabetes de larga evolución.

La limitación de la movilidad articular, que es uno de los componentes del síndrome de engrosamiento cutáneo, se observa tanto en personas mayores como en pacientes diabéticos. Se debe a la acumulación de AGEs en el colágeno de la matriz extracelular de la cápsula articular, ligamentos y unidad músculotendinosa provocando en el mismo, los cambios antes mencionados.

Hay similitudes entre estos cambios graduales del colágeno envejecido y los del paciente diabético, en quienes se describe una aceleración de este proceso con el consiguiente envejecimiento prematuro.

Una de las explicaciones para la senescencia acelerada es que el déficit parcial o total de insulina, o el no reconocimiento de la misma por sus receptores celulares en la diabetes, afectan la utilización de glucosa en diferentes tejidos (adiposo, muscular) que la necesitan para que entre a la célula. En la piel la insulina participa en varios procesos cutáneos importantes como el crecimiento y diferenciación de los queratinocitos, la reparación de heridas, etc. Pero son los fibroblastos los que constituyen su *target* más relevante, de lo que resulta un colágeno glicosilado, menos soluble y más entrecruzado, todos cambios propios de un colágeno envejecido.

¿Qué sucede en el envejecimiento? El envejecimiento es un status que consiste en la acumulación de una serie de defectos en las vías metabólicas, que llevan a una disminución de la producción de energía mitocondrial.

Hay un envejecimiento intrínseco o verdadero, que es universal e inevitable y se debe solamente al paso del tiempo; y un envejecimiento extrínseco o fotoenvejecimiento en el que, al anterior, se le superponen cambios atribuibles a la exposición crónica a la radiación ultravioleta. Éste no es ni universal ni inevitable.

Entre los componentes que favorecen el envejecimiento intrínseco están aquellos que se generan como consecuencia del metabolismo normal, como los radicales libres (RL), los azúcares reductores y la GNE con formación de AGEs, que actúan por injuria hacia macromoléculas como el ADN o las proteínas.

La GNE de la superóxido dismutasa (SOD) por ejemplo, afecta su actividad biológica y los procesos celulares *in vivo* en los que participa. Esta enzima cumple un papel importantísimo en la reparación del ADN y nos defiende contra los radicales libres de oxígeno (ROS). Los ROS constituyen una amenaza hacia los sistemas biológicos que se traduce en daño genético estructural y funcional. Si la actividad de la SOD queda bloqueada por glicación, el efecto nocivo de los radicales libres sería mayor y por lo tanto también envejeceríamos más.

Los AGEs actúan por unión a un receptor de membrana (RAGE) presente en las células epiteliales, endoteliales, del sistema inmune y del sistema nervioso central. Una vez activado el receptor, que entre sus múltiples ligandos reconoce los AGEs, es capaz de generar respuestas pro-inflamatorias sobre todo en las células endoteliales y monocitos.

En la piel, los AGEs se acumulan en la elastina y el colágeno e interactúan con su receptor de membrana celular específico RAGE, que se expresa sobre todo en fibroblastos, dendrocitos dérmicos y queratinocitos y en menor medida en células endoteliales y células mononucleares.

La interacción AGE-RAGE influye en el envejecimiento cutáneo a través de la estimulación de la expresión de genes de la matriz extracelular (MEC), generando más especies reactivas de oxígeno y aumentando sostenidamente la producción de moléculas de adhesión y mediadores pro-inflamatorios.

Los cambios clínicos cutáneos más importantes del envejecimiento intrínseco son mayor sequedad y descamación de la piel, menor laxitud, arrugas, adelgazamiento de la piel, pérdida de la luminosidad y una variedad de tumores benignos como los acrocordones, angiomas rubí, queratosis seborreicas, etc.

El funcionamiento de la piel también declina con la edad y los procesos que están disminuidos incluyen: el turnover celular, la función de barrera, la protección mecánica, la reparación de heridas, la respuesta inmune, la termorregulación, la producción de sudor, sebo y vitamina D y la reparación del ADN como mencionamos anteriormente.

Se describen alteraciones en las tres capas de la piel. Durante el envejecimiento, en la dermis es de particular importancia los cambios que sufren el colágeno, la elastina y la matriz extracelular (MEC). El contenido de colágeno por unidad de área de la superficie cutánea disminuye aproximadamente 1% por año a lo largo de la vida adulta y las fibras restantes parecen más desorganizadas y compactas así como más entrecruzadas. Con la edad hay un aumento del ARNm de la colagenasa intersticial tanto basal como inducido, debido a un aumento de la actividad post-transcripcional del promotor de colagenasa. Además disminuyen las concentraciones de procolágeno tipo I y III que es una medida proporcional de la síntesis de colágeno.

Es concluyente que, con el correr de los años, el balance es netamente negativo, disminuye la síntesis de colágeno y aumenta su degradación por colagenasas. En el sexo femenino, los años inmediatamente posteriores a la menopausia, se correlacionan con un rápido detrimento de los niveles de colágeno, lo cual sustenta una influencia hormonal estrogénica tanto en su síntesis como en su degradación.

A medida que envejecemos, las fibras de elastina disminuyen en número y diámetro, están fragmentadas por actividad de la elastasa y aumentan progresivamente tanto el entrecruzamiento como su calcificación. Esto conlleva la pérdida de la malla elástica dérmica que confiere, entre otras cosas, protección mecánica. Las fibras de colágeno y elastina están embebidas en la MEC, en la que los cambios por la edad se atribuyen sobre todo al contenido seco de la misma y en especial al ácido hialurónico (AH).

Se postulan diferentes teorías para explicar el proceso de envejecimiento, una de ellas lo vincula al aumento en la producción de los radicales libres de oxígeno (ROS), que inducen severas alteraciones en los lípidos, proteínas, nucleoproteínas y glúcidos.

Los ROS son moléculas inestables altamente reactivas con un número impar de electrones, lo que las habilita a interactuar con otras moléculas y formar así, más radicales libres. A su vez existen mecanismos de protección contra los ROS, que son los antioxidantes enzimáticos (SOD) y no enzimáticos. Se dice que hay estrés oxidativo, cuando la producción de radicales libres supera la capacidad antioxidante del organismo.

Los radicales libres se pueden formar endógenamente, a través del metabolismo mitocondrial normal o por influencia exógena, cuya fuente proviene del medio ambiente (dieta y drogas). Una dieta alta en calorías, aumenta los radicales libres y por lo tanto el envejecimiento.

Por el contrario una dieta de restricción calórica se ha comprobado que disminuye los AGEs como la carboximetilisina (CML) y la Pentosidina (P) en un 25% y un 50% respectivamente. Una dieta con menos del 30% de calorías aumenta tanto de la vascularización como la actividad de los fibroblastos y el tejido conectivo por lo tanto, disminuye el envejecimiento.

Por otro lado, la concentración sérica de AGEs como la CML y el metilglioxal y sus derivados es mayor en personas de edad avanzada de ambos sexos por igual, comparados con los más jóvenes. A su vez un consumo dietético excesivo de ciertos AGEs aumenta marcadores circulantes de estrés oxidativo e inflamación en adultos sanos, especialmente en personas mayores.

En humanos, ensayos a corto plazo indican que una dieta pobre en AGEs reduce la carga oxidante y los marcadores de la inflamación. Por lo tanto la restricción calórica reduce la producción de AGEs y con ello, el envejecimiento y las complicaciones de la Diabetes.

La anormalidad bioquímica común al envejecimiento celular y al desarrollo de las complicaciones crónicas de la diabetes es la Glicosilación no enzimática, con la formación de los productos de glicosilación no enzimática avanzada o AGEs.

Esta reacción ocurre tanto en el envejecimiento fisiológico, como en el estrés oxidativo y en la DM donde los AGEs se acumulan en diferentes tejidos de manera acelerada.

La unión de los AGEs con su receptor no solo tiene acción pro-inflamatoria sino que además incrementa el estrés oxidativo, que en la Diabetes contribuye a cambios funcionales en el control del tono vascular y otras alteraciones vasculares y al envejecimiento lo perjudica notablemente.

De hecho, todos estos procesos se imbrican entre sí de manera tal que, por ejemplo la DM aumenta el estrés oxidativo y con ello el envejecimiento. También en el envejecimiento hay aumento del estrés oxidativo, factores pro-oxidantes, mediadores de la inflamación y acumulación de AGEs, en el que queda instaurado un círculo cerrado de envejecimiento-AGEs, ROS, etc...

Altos niveles de glucosa y AGEs estimulan por su parte, la producción de ROS por activación de la NADPH oxidasa de modo concentración y tiempo dependiente al mismo tiempo que, en la diabetes hay una disminución de la capacidad antioxidante al activar la vía de los polioles, que depleta de NADPH e inhibe enzimas NADPH dependientes como la glutatión reductasa. El estrés oxidativo puede, a su vez, empeorar la función de las células pancreáticas y contribuir como resultado a la DM, generándose nuevamente un círculo vicioso.

Hay numerosos trabajos enfocados al estudio del metabolismo y tratamiento de los AGEs y a su rol como mediadores, no sólo en el desarrollo de las complicaciones crónicas de la DM, como en la patogénesis del envejecimiento, de la enfermedad de Alzheimer y otros procesos degenerativos.

Varias drogas que pueden interferir en la formación y eliminación de AGEs o con los efectos celulares que los AGEs producen, están bajo estudio (entre ellas la piridoxamina una forma activa de la Vitamina B6, compuestos que atacan los AGEs "breaker compounds", glucosamina, isoformas solubles de RAGE y estatinas). En modelos animales experimentales, estas drogas son eficaces en la reducción de complicaciones diabéticas debidas a la formación de AGEs; sin embargo, hacen falta más estudios para su utilización en la práctica médica.

Muchos esfuerzos científicos actuales están dirigidos a romper con este circuito dañino para la salud y es de esperar que en un futuro no muy lejano veamos resultados al respecto.

Emilia N. Cohen Sabban

Servicio de Dermatología. Instituto de Investigaciones Médicas A. Lanari.

Buenos Aires. Argentina.

e-mail: emics@fibertel.com.ar

Bibliografía

- Balakumar P, Rohilla A, Krishan P, Solairaj P, Thangathirupathi A. The multifaceted therapeutic potential of benfotiamine. *Pharmacol Res* 2010; 61: 482-8.
- Cárdenas-León M, Díaz-Díaz E, Argüelles-Medina R, Sánchez-Canales P, Díaz-Sánchez V, Larrea F. Glycation and protein crosslinking in the diabetes and ageing pathogenesis. *Rev Invest Clin* 2009; 61: 505-20.
- Ge QM, Dong Y, Su Q. Effects of glucose and advanced glycation end products on oxidative stress in MIN6 cells. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2010; 56 (Suppl.): 1231-8.
- González Flecha FL, Castello Pablo R, Gagliardino JJ, Rossi JPFC. La glucosilación no enzimática de proteínas. Mecanismo y papel de la reacción en la diabetes y el envejecimiento. *Ciencia al Día Internacional* 2000, Vol. 3, No. 2.
- Katakami N, Matsuhisa M, Kaneto H, Matsuoka TA, Sakamoto K, Nakatani Y et al. Decreased endogenous secretory advanced glycation end product receptor in type 1 diabetic patients: its possible association with diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 2005; 28: 2716-21.
- Lohwasser C, Neureiter D, Weigle B, Kirchner T, Schuppan D. The receptor for advanced glycation end products is highly expressed in the skin and upregulated by advanced glycation end products and tumor necrosis factor-alpha. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 291-9.
- McCance DR, Dyer DG, Dunn JA, Bailie KE, Thorpe SR, Baynes JW, Lyons TJ. Maillard reaction products and their relation to complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1993; 91:2470-8. begin_of_the_skype_highlighting
- Méndez JD, Xie J, Aguilar-Hernández M, Méndez-Valenzuela V. Trends in advanced glycation end products research in diabetes mellitus and its complications. *Mol Cell Biochem* 2010; 341: 33-41.
- Monnier VM, Vishwanath V, Frank KE, Elmets CA, Dauchot P, Kohn RR. Relation between complications of type I diabetes mellitus and collagen-linked fluorescence. *N Engl J Med* 1986; 314: 403-8.
- Paolisso G, Giuglaero D. Oxidative stress and insulin action. Is there a relationship? *Diabetologia* 1996; 39: 357-63.
- Sell DR, Lapolla A, Odetti P, Fogarty J, Monnier VM. Pentosidine formation in skin correlates with severity of complications in individuals with long-standing IDDM. *Diabetes* 1992; 41: 1286-92.
- Shagan BP. Is Diabetes a Model of Aging? *Med Clin North Am* 1976; 60: 1209-11.
- Singh R, Barden A, Mori T, Beilin L. Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia* 2001; 44: 129-46.
- Vishwanath V, Frank KE, Elmets CA, Dauchot PJ, Monnier VM. Glycation of skin collagen in type I diabetes mellitus. Correlation with long-term complications. *Diabetes* 1986; 35: 916-21.