

**La glucosilación no enzimática de proteínas.  
Mecanismo y papel de la reacción en  
la diabetes y el envejecimiento.**

© F. Luis González Flecha, Pablo R. Castello,  
Juan J. Gagliardino y Juan Pablo F.C. Rossi 2000  
lgf@qb.ffyb.uba.ar

**RESUMEN**

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

**ABSTRACT**

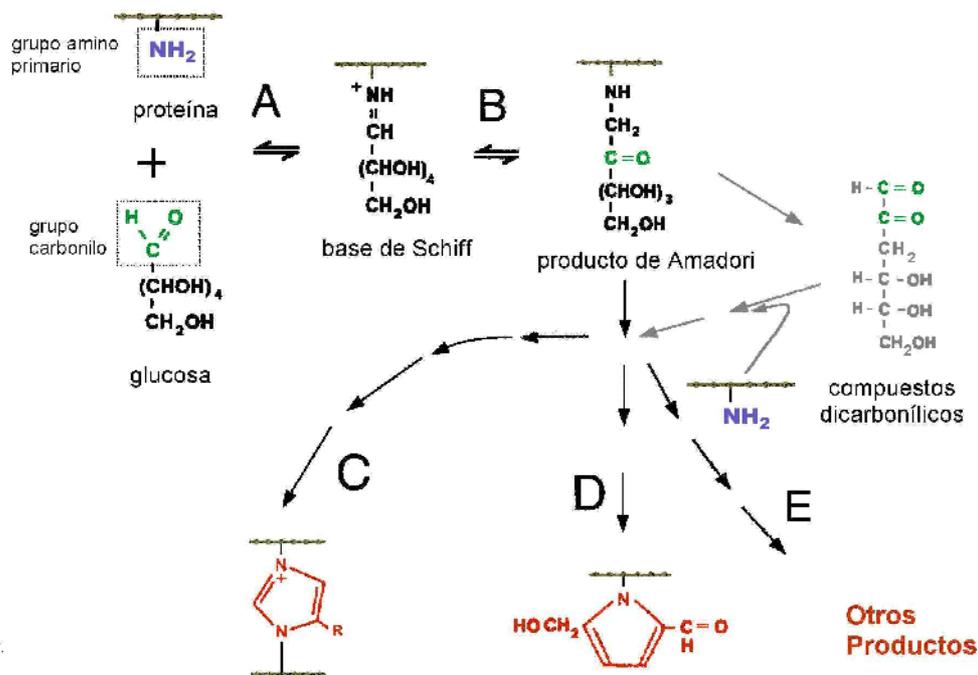
Protein exposure to reducing sugars produces its non-enzymatic glycosylation, also known as Maillard reaction or glycation. This reaction proceeds through several stages: the early ones are reversible and completed in relatively short periods, whereas the later

stages take place more slowly and are irreversible. It is postulated that both, the initial and the end products of this process are involved in the cellular mechanisms of aging and in the development of the chronic complications of diabetes. In the present article we present an overview of the mechanistic aspects of these reactions, as well as the biological effects related to the non-enzymatic glycosylation of proteins in human beings.

## Introducción

La glucosilación no enzimática de proteínas -denominada reacción de Maillard y más recientemente llamada glicación- ha sido estudiada sistemáticamente desde principios de siglo [Maillard, 1912] a partir de su aplicación en la industria alimentaria en el mejoramiento del aspecto y el sabor de los alimentos. Estos alimentos modificados se ingieren diariamente con la dieta y se sabe actualmente que algunos de ellos pueden ser nocivos para el organismo.

Por más de 50 años, el avance en la comprensión química de esta reacción estuvo directamente vinculado con la ciencia y la tecnología alimentarias. Su relevancia fisiológica se puso de manifiesto a partir del descubrimiento de moléculas de hemoglobina glucosiladas en la sangre de individuos sanos y del aumento en su proporción en personas que padecen diabetes [Koenig et al., 1976]. Desde el punto de vista químico, la glucosilación se define como la reacción de grupos amino primarios de aminoácidos, péptidos y proteínas con el grupo carbonilo de los azúcares reductores. A lo largo de esta reacción se pueden distinguir tres etapas: inicialmente se produce la asociación del azúcar con la proteína, formando un compuesto denominado base de Schiff (Fig. 1A); la estructura de este compuesto se reordena hacia una forma más estable, denominada producto de Amadori (Fig. 1B). Éste posteriormente sufre una serie de complejas transformaciones que conducen a la formación de compuestos generalmente coloreados y/o fluorescentes (Fig. 1C, D y E). En condiciones fisiológicas la aparición de estos compuestos está determinada por la concentración de azúcares reductores y por el tiempo de exposición de la proteína a los mismos (vida media de la proteína). En proteínas de recambio rápido, el proceso de glucosilación no enzimática no supera, en general, las etapas iniciales (formación de la base de Schiff y eventualmente del producto de Amadori), mientras que las de vida media larga llegan a formar los productos de glucosilación avanzada.



PRODUCTOS DE GLUCOSILACION AVANZADA

**FIGURA 1:** Esquema de reacción del proceso de glucosilación no enzimática de proteínas. (A) Formación de la base de Schiff. (B) Reordenamiento de Amadori. A través de una serie de reacciones complejas los productos de Amadori pueden originar derivados con estructura imidazólica (C) pirrólica (D) y otras diversas (iminas, furanos, piridinas, etc).

### Características de las especies reactivas

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

Schiff. La reactividad de los distintos azúcares está dada por la disponibilidad de su grupo carbonilo. Se sabe que la forma abierta o extendida de los azúcares no es muy estable, a tal punto que, por ejemplo, en la glucosa representa sólo el 0,002 %. Las moléculas de azúcar consiguen estabilizarse a través de un equilibrio entre dicha forma abierta y por lo menos dos formas cerradas (anómeros cíclicos) en las que el grupo carbonilo ha desaparecido. En 1953, el grupo de Aaron Katchalsky, en el entonces recientemente creado Instituto Weizmann de Israel, demostró que existe una correlación entre la velocidad de la reacción de glicación y la proporción de la forma abierta de cada azúcar [Katchalsky & Sharon, 1953]. De hecho, los azúcares fosfato, que son azúcares reductores de gran importancia en el interior celular, poseen mayor capacidad glucosilante que la glucosa dada su mayor proporción de forma carbonílica (abierta).

Los aminoácidos, unidad estructural de todas las proteínas, son especies químicas que poseen un grupo amino primario, un grupo carboxilo y una cadena lateral característica de cada aminoácido. Al formarse una proteína se produce la reacción entre el grupo carboxilo del primer aminoácido y el grupo amino del siguiente formándose el denominado enlace peptídico. En consecuencia, una vez formada la cadena polipeptídica, sólo quedará como tal el grupo amino primario del primer aminoácido, constituyendo el denominado grupo amino terminal. Además, algunos aminoácidos poseen en su cadena lateral grupos capaces de reaccionar con los azúcares reductores (el amino de la lisina y el guanidinio de la arginina). En la glucosilación no enzimática de las proteínas, el grupo amino terminal es el más reactivo, seguido por los grupos amino primarios de la cadena lateral de los residuos de lisina y, con mucha menor reactividad, los grupo guanidinio de los residuos de arginina [Okitani et al., 1984].

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

## **Etapas reversibles del proceso de glicación**

La base de Schiff inicialmente formada cuando reacciona un azúcar reductor con una proteína resulta de la adición del grupo amino de la proteína al grupo carbonilo del azúcar. Esta molécula es sólo estable por un corto tiempo, luego del cual se inicia un proceso de reordenamiento de los enlaces químicos, que da lugar a un producto más estable denominado genéricamente producto de Amadori. Dicho producto aun posee un grupo carbonilo con capacidad de seguir reaccionando con grupos amino primarios accesibles y, al igual que lo que ocurría con los azúcares, estabiliza su estructura a través de equilibrios entre una forma abierta y por lo menos dos anómeros cíclicos.

Una vez que el azúcar reductor se pone en contacto con los grupos amino primarios de las proteínas, la formación de la base de Schiff transcurre rápidamente y alcanza el equilibrio termodinámico en unas pocas horas, mientras que para los productos de Amadori, el equilibrio termodinámico se alcanza entre las 2 y las 4 semanas [Lee & Cerami, 1992].

El hecho de que ambas reacciones sean reversibles y consecutivas determina que de acuerdo al tiempo de evolución del sistema considerado, habrá predominio de la base de Schiff (horas) o del producto de Amadori (días). La interrupción del contacto de la glucosa con la proteína en cualquiera de estas etapas produce la reversión completa del efecto.

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

En la sección anterior mencionamos que los productos de Amadori poseen un grupo carbonilo que puede seguir reaccionando con otros grupos amino. El mecanismo de estas reacciones no se conoce con detalle aunque se sabe que es un proceso que involucra complejos reordenamientos intramoleculares y en algunos casos la asociación entre varios de estos compuestos. Durante esta etapa se forman también compuestos altamente reactivos que poseen dos grupos carbonilo y que actúan como propagadores de la reacción. Luego de varios meses o inclusive años de contacto con glucosa, las proteínas de bajo recambio (vida media larga), como por ejemplo el colágeno, originan una serie de productos denominados genéricamente productos de glucosilación avanzada ("AGE", por Advanced Glycosylation End-products) [Vlassara et al., 1984]. Muchos de ellos son fluorescentes, presentan color pardo amarillento y resultan del entrecruzamiento con otras proteínas o con otras zonas de la misma proteína [Reynolds, 1963]. A diferencia de la formación de la base de Schiff o del

producto de Amadori, que son reversibles, la formación de "AGEs" es un proceso lento y fuertemente desplazado hacia la formación de productos.

El aislamiento y la identificación química de estos compuestos ha sido problemática, dada su heterogeneidad e inestabilidad. A través de ensayos in vitro, se han podido aislar e identificar unos pocos "AGEs" como los representados en la figura 1 C y D. Posteriormente se ha confirmado la presencia de "AGEs" in vivo, por ejemplo en proteínas plasmáticas y en tejido conectivo, utilizando anticuerpos específicamente dirigidos contra estos productos [Makita et al., 1992].

## **Efectos de la glicación sobre la actividad biológica de las proteínas**

Los estudios realizados in vitro poniendo en contacto proteínas con azúcares muestran que la glicación puede afectar o no su actividad biológica. Dicho efecto debe ser cuidadosamente estudiado con el objeto de establecer una relación causa-efecto [González Flecha et al., 1993] ya que el fenómeno observado podría ser consecuencia de la glicación de otro componente que a su vez interacciona con la proteína o de reacciones entre la proteína y algún producto secundario generado durante la glicación. Hasta ahora, la disminución de la actividad biológica como consecuencia directa de la glicación se ha observado en un reducido número de casos, incluyendo varios sistemas enzimáticos donde grupos amino participan en el proceso de catálisis. En este grupo podemos mencionar a la calmodulina [Kowluru et al., 1989], la superóxido dismutasa [Taniguchi et al., 1989] y la bomba de calcio en eritrocitos humanos [González Flecha et al., 1999]. En algunos sistemas enzimáticos, como por ejemplo la aldosa reductasa, se ha visto que, por el contrario, la glicación produce un aumento de su actividad [Srivastava et al., 1989]. Estas modificaciones de la actividad enzimática pueden dar lugar, in vivo, a alteraciones de los procesos celulares en los que participa cada enzima, por ejemplo la bomba de calcio, que interviene en la regulación de la concentración de  $Ca^{2+}$  en el interior de las células. Las variaciones en dicha concentración, inducidas por diversos estímulos, están involucradas en los procesos de contracción muscular, expresión génica, diferenciación celular, secreción, y varias funciones neuronales [Carafoli & Klee, 1999]; la inactivación parcial de esta enzima, producto de la glucosilación no enzimática, podría provocar alteraciones en estos importantes procesos. Por otra parte, la calmodulina ha sido reconocida como el principal mediador de los estímulos regulados por  $Ca^{2+}$  y su alteración traería graves consecuencias al normal

funcionamiento de las células. Por otro lado, la superóxido dismutasa que desempeña un papel fundamental en los mecanismos de defensa del organismo frente a los radicales libres de oxígeno, al inhibirse por glicación podría incrementar el efecto nocivo de los radicales libres.

## **La glucosilación de proteínas en la diabetes y el envejecimiento**

En personas diabéticas descompensadas, la concentración de glucosa en la sangre se encuentra sustancialmente aumentada. Además, la falta de insulina o de sensibilidad de los receptores celulares para esta hormona hace que las células musculares y del tejido adiposo, que normalmente son los principales consumidores de glucosa, no puedan utilizar este azúcar. Por el contrario, el resto de las células del organismo que no necesitan de insulina para que la glucosa ingrese al interior celular, se encuentran con una elevada concentración de glucosa intracelular. Esta situación favorece la glucosilación de gran número de proteínas intra y extracelulares [Brownlee, 1995].

Las proteínas de vida media corta (por ejemplo las proteínas plasmáticas) y las presentes en células que son rápidamente reemplazadas (por ejemplo los glóbulos rojos) alcanzan a formar bases de Schiff o productos de Amadori. Se ha encontrado que estos compuestos están asociados al desarrollo de patologías vasculares y renales [Cohen et al., 1995; 1996] y al anormal funcionamiento del mecanismo de transporte del calcio [González Flecha et al., 1990; 1993].

Por otro lado, las proteínas de bajo recambio (por ejemplo el colágeno, la mielina, la proteína del cristalino ocular) pueden llegar a transformarse en productos de glucosilación avanzada. Estos "AGEs" están implicados en el desarrollo de diversas patologías a través de tres mecanismos generales [Brownlee 1995]: 1) la modificación de proteínas estructurales que se encuentran fuera de la célula, 2) el desencadenamiento de procesos intracelulares a través de la unión a receptores extracelulares y 3) la alteración de proteínas intracelulares. Algunos ejemplos ayudarán a visualizar mejor cómo operan estos mecanismos.

El componente fundamental de la matriz extracelular es el colágeno. Cuando esta proteína, localizada por ejemplo en las paredes arteriales y las membranas basales de los capilares, se glucosila, llega a formar productos de entrecruzamiento no sólo con otras moléculas de colágeno sino también con varias proteínas plasmáticas, que en circunstancias normales son de vida media corta, como por ejemplo la albúmina, las inmunoglobulinas y las lipoproteínas de baja densidad. Estas estructuras producen el engrosamiento, disminuyen la flexibilidad y la permeabilidad de dichos tejidos, y se ha sugerido que estarían involucradas en el

desarrollo de enfermedades vasculares [Wautier & Guillausseau, 1998], aterosclerosis y glomeruloesclerosis [Vlassara, 1996].

La detección de productos de glucosilación avanzada en cerebro de individuos con enfermedad de Alzheimer y otras patologías neurodegenerativas, mediante anticuerpos específicos [Sasaki et al., 1998], permitió determinar su localización preferencial en algunas estructuras características de estas enfermedades (placas seniles y manojos neurofibrilares). Además se postula que estos "AGEs" inducen el estrés oxidativo con el consecuente daño neuronal [Yan et al., 1994]. Si bien estas evidencias no establecen un papel causal preponderante de los "AGEs" en la enfermedad de Alzheimer, son consistentes con tal hipótesis [Brownlee, 1995].

Muchos de los efectos deletéreos de los "AGEs" serían mediados por la unión a moléculas receptoras específicas (de la familia de las inmunoglobulinas) localizadas en la superficie celular de células endoteliales, monocitos, macrófagos y células del músculo liso vascular [Schmidt et al., 1996]. La unión de los "AGEs" a estos receptores desencadena la generación de radicales libres de oxígeno, que modularían la función celular induciendo, por ejemplo, procesos inflamatorios y la activación de sistemas de eliminación de la proteína AGE-modificada.

Los efectos biológicos de los "AGEs" no se restringen exclusivamente a personas diabéticas o de edad avanzada. En personas no diabéticas con deficiencia renal se observa la acumulación plasmática de proteínas "AGE-modificadas" debido a la falla de los mecanismos responsables de la transformación y eliminación de compuestos carbonílicos altamente reactivos (estrés carbonílico) [Miyata et al., 1999]. Tampoco se trata de un proceso que afecta sólo a las proteínas. El ADN es una molécula de bajo recambio, al menos en células que no se encuentran en pleno proceso de división, posee grupos amino primarios y se encuentra dentro del núcleo celular en contacto con el azúcar reductor ADP-ribosa [Cervantes-Laurean et al., 1996], por lo que es un blanco potencial para la formación de productos de glucosilación avanzada. Estos "AGEs" contribuirían al incremento de las alteraciones cromosómicas y al deterioro de la reparación, replicación y transcripción del ADN. Dichos cambios genéticos disminuirían la capacidad de las células para renovar sus proteínas y por lo tanto comprometen la supervivencia del organismo [Cerami et al., 1987].

Gran parte de los esfuerzos en el cuidado de la salud se dirigen a evitar las enfermedades relacionadas con el envejecimiento. Para esto es necesario mejorar nuestra comprensión de las bases biológicas de estos procesos. Los mecanismos que favorecen el envejecimiento actúan dañando a las macromoléculas (ADN, proteínas) y a otros componentes del organismo. Proviene de fuentes exógenas

y endógenas. Entre las exógenas las más importantes son las radiaciones (luz ultravioleta, radioactividad, rayos X, etc) y las sustancias que no se encuentran normalmente en el organismo (medicamentos, algunos componentes de los alimentos, contaminantes ambientales, etc.). Los factores endógenos son generados normalmente como consecuencia del metabolismo e incluyen principalmente el calor corporal, los radicales libres y la glucosa junto a otros azúcares reductores [Franceschi et al., 1992]. El envejecimiento y la diabetes se relacionan de manera tal que el efecto de la diabetes sobre muchos órganos y tejidos a menudo se describe como un envejecimiento acelerado. Muchas de las complicaciones que afectan a las personas diabéticas -por ejemplo: cataratas, hipertensión, aumento de la susceptibilidad a infecciones y aterosclerosis- son idénticas a las alteraciones que se presentan en la vejez, pero aparecen precozmente. Hay cuatro observaciones de importancia fundamental que justifican la participación de la glicación de proteínas en los procesos de envejecimiento [Monnier, 1989]: 1) los cambios más definidos relacionados con la edad aparecen en tejidos cuyas proteínas tienen bajo recambio, 2) muchos de estos cambios son acelerados en la diabetes y en las enfermedades renales, 3) estos cambios, así como muchas enfermedades relacionadas con la vejez, se retardan por restricción alimentaria, 4) tanto la diabetes como la restricción alimentaria modifican la concentración de glucosa en la sangre y de otros azúcares reductores intracelulares.

Además de la destrucción celular a través de procesos inflamatorios previamente descrita, los productos de glucosilación avanzada actuarían como inductores de la muerte celular programada o apoptosis [Min et al., 1999]. La apoptosis es un proceso natural mediante el cual las células sufren una serie de transformaciones que conducen a su muerte. Se diferencia de la muerte patológica o necrosis debido a que no existe liberación del contenido celular al espacio extracelular, lo que generaría un proceso inflamatorio involucrando a las células vecinas. La muerte programada es un proceso normal del desarrollo animal y sería usado por el organismo en tres situaciones [Vaux & Strasser, 1996]: 1) en el reemplazo de las células durante el desarrollo del organismo, 2) como un mecanismo de defensa frente a ataques virales, y 3) en el reemplazo de las células envejecidas por otras nuevas. Se especula que la apoptosis podría ser útil al organismo para eliminar células dañadas sin perjudicar a las células vecinas. Dicho proceso, desencadenado por señales externas o internas (entre ellas los "AGEs"), es controlado a través de una serie de proteínas codificadas por los genes de la misma célula, que identifican la señal y la transforman en la respuesta apoptótica.

Varias teorías han sido propuestas para explicar los procesos de envejecimiento. La teoría del estrés oxidativo establece que el incremento del daño oxidativo con la edad sería la principal causa de envejecimiento [Sohal & Weindruch, 1996]. La teoría mitocondrial establece que la acumulación de mitocondrias dañadas por efectos de estrés oxidativo sería la fuerza impulsora en el proceso de envejecimiento [Grey, 1997]. La teoría de la glicación sugiere que el entrecruzamiento generado en proteínas y ácidos nucleicos por glucosilación no enzimática contribuiría al decaimiento de las funciones del organismo relacionadas con la edad [Lee & Cerami, 1992]. Por otro lado, se postula que el aumento de la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular debido a la pérdida de los mecanismos de regulación sería uno de los principales factores en la generación de daño, muerte, proliferación, diferenciación y envejecimiento celulares [Trump & Berezsky, 1992]. Actualmente se proponen hipótesis unificadas del envejecimiento como la denominada red deletérea del envejecimiento [Ying, 1997], que incluye la acción interactiva del deterioro oxidativo, defectos mitocondriales, anomalías en el metabolismo del calcio y reacciones de glicación de proteínas. Se ha comprobado que estos factores presentan estrechas vinculaciones entre sí. Las reacciones que conducen a los productos de glucosilación avanzada pueden generar intermediarios reactivos del oxígeno y, al mismo tiempo, el oxígeno y las reacciones de oxidación pueden acelerar las reacciones de glicación. Por otro lado, hemos demostrado el efecto de la glicación sobre la bomba de  $\text{Ca}^{2+}$  [González Flecha et al., 1990] que conduciría al aumento de la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular. La hipótesis de la red deletérea postula que en organismos vivos los factores de agresión, tanto internos como externos, producirían la acumulación edad-dependiente de factores desencadenantes que, una vez que alcanzan un nivel umbral, activarían la red. Estas teorías proveen explicaciones consistentes para un gran número de cambios vinculados al envejecimiento.

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

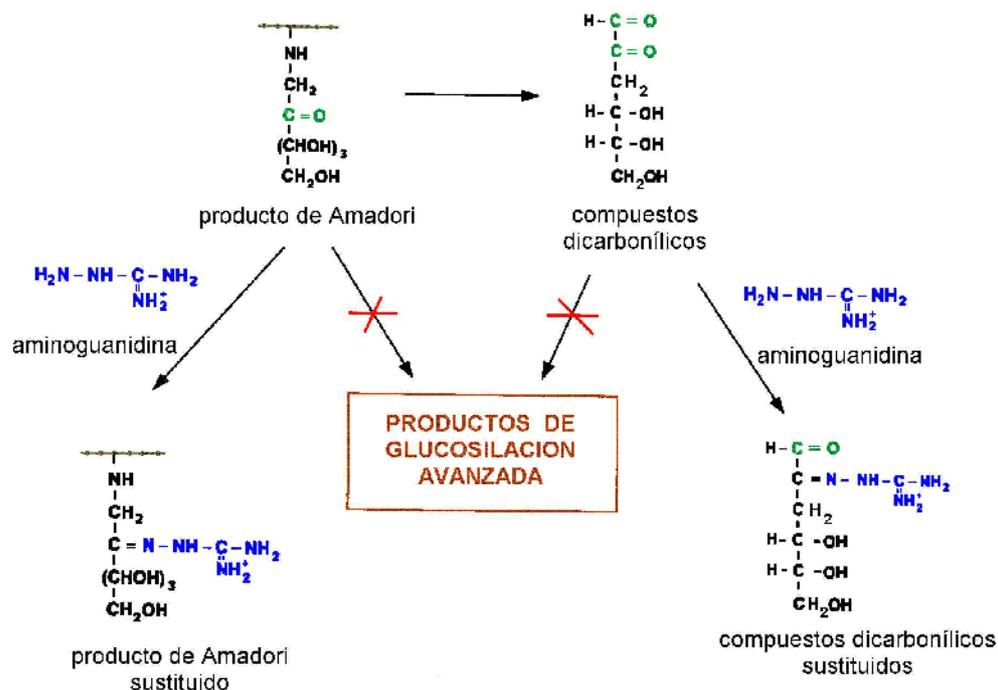
Gran parte de los esfuerzos actuales en la investigación de los procesos de glucosilación no enzimática están dedicados a la búsqueda de procedimientos que permitan revertir o evitar sus efectos. In vitro esto es posible modificando los factores que aceleran estas reacciones. Disminuyendo la temperatura, bloqueando el grupo amino por acidificación del medio de reacción o bloqueando el grupo carbonilo con otros compuestos -el sulfito de sodio es el más empleado- es posible retardar el proceso hasta que prácticamente no se produzca la unión de

los reactivos. Estas estrategias han sido implementadas eficazmente en la industria alimenticia para prevenir la pérdida del valor nutritivo de los alimentos y la generación de productos tóxicos y agentes mutagénicos producidos por glicación durante su industrialización.

Sin embargo, estos métodos no son aplicables al control de los efectos de la glicación en condiciones fisiológicas in vivo ya que son incompatibles con la vida. Una estrategia posible consiste en evitar el avance de la reacción una vez formada la base de Schiff. Esto requiere el bloqueo de los compuestos carbonílicos altamente reactivos (producto de Amadori y compuestos dicarbonílicos) que se formaron durante las primeras etapas de la glicación. En este sentido se han ensayado derivados de la hidrazina, que tienen mayor reactividad que los grupos amino frente a los compuestos carbonílicos; de ellos el que produjo un mejores resultados fue la aminoguanidina (Figura 2).

La aminoguanidina inhibe in vitro la formación de productos de glucosilación avanzada en el colágeno, y su administración a ratas diabéticas inhibe la acumulación de productos de glucosilación avanzada y el entrecruzamiento en el tejido conectivo de la pared arterial [Brownlee et al., 1986]. Actualmente la aminoguanidina se encuentra en la tercera fase de ensayos clínicos para su utilización en el tratamiento de las complicaciones renales asociadas a la diabetes [Khalifah et al., 1999].

Recientemente se han descrito nuevas moléculas capaces de bloquear la conversión de los productos de Amadori en "AGEs", entre las cuales se encuentran las denominadas genéricamente amadorinas [Khalifah et al., 1999]. Los estudios realizados hasta el presente muestran que la inhibición se produce a través de un mecanismo diferente al descrito para la aminoguanidina. La más potente de estas sustancias es un análogo de la vitamina B6, la piridonina. Los resultados obtenidos indican que la aplicación de esta molécula podría ser efectiva en el tratamiento y prevención de las complicaciones que presentan las personas diabéticas.



**FIGURA 2:** Prevención de la formación de productos de glucosilación avanzada mediante la aminoguanidina. La aminoguanidina se une preferentemente a los compuestos carbonílicos dando lugar a productos sustituidos que no permiten el avance de la reacción.

## Referencias

- Brownlee M. Advanced protein glycosylation in diabetes and aging. *Annu Rev Med* 46,223-234,1995
- Brownlee M., Vlassara H., Kooney A., Ulrich P., Cerami A. Aminoguanidine prevents diabetes-induced arterial wall protein cross-linking. *Science* 232,1629-1632,1986
- Carafoli E., Klee C. (Eds) Calcium as a cellular regulator. Oxford University Press, New York,1999
- Cerami A., Vlassara H., Brownlee M. Glucose and aging. *Sci Am* 82-88, May 1987
- Cervantes-Laurean D., Jacobson E.L., Jacobson M.K. Glycation and glycoxidation of histones by ADP-ribose. *J Biol Chem* 271,10461-10469,1996
- Cohen M.P., Hud E., Wu V.Y., Ziyadeh F.N. Glycated albumin modified by Amadori adducts modulates aortic endothelial cell biology. *Mol Cell Biochem* 143,73-79,1995
- Cohen M.P., Ziyadeh F.N. Role of Amadori-modified nonenzymatically glycosylated serum proteins in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 7,183-190,1996

- Franceschi C., Crepaldi G., Cristofalo V.J., Vijg J. (Eds) Aging and Cellular defense mechanism. Ann NY Acad Sci New York, 1992
- González Flecha F.L., Bermúdez M.C., Cédola N.V., Gagliardino J.J., Rossi J.P.F.C. Decreased Ca<sup>2+</sup>-ATPase activity after glycosylation of erythrocyte membranes in vivo and in vitro. Diabetes 39,707-711,1990
- González Flecha F.L., Castello P.R., Caride A.J., Gagliardino J.J. and Rossi J.P.F.C. The erythrocyte calcium pump is inhibited by non-enzymic glycation: studies in situ and with the purified enzyme. Biochem J 293,369-375,1993
- González Flecha F.L., Castello P.R., Gagliardino J.J. and Rossi J.P.F.C. Molecular characterization of the glycated plasma membrane calcium pump. J Membrane Biol 171,25-34,1999
- Grey A.D. A proposed refinement of the mitochondrial free radical theory of aging. Bioessays 19,161-166,1997
- Katchalsky A., Sharon N. Kinetics of aldose-amino acid interaction. Biochim Biophys Acta 10,290-301,1953.
- Khalifah R.G., Baynes J.W., Hudson B.G. Amadorins: novel post-amadori inhibitors of advanced glycation reactions. Biochem Biophys Res Commun 257,251-258,1999
- Koenig R.J., Peterson C.M., Jones R.L., Saudek C., Lehrman M., Cerami A. Correlation of glucose regulation and hemoglobin A1c in diabetes mellitus. N Engl J Med 295,417-420,1976
- Kowluru, R.A., Heidorn, D.B., Edmondson, S.P., Bitensky, M.W., Kowluru, A., Downer, N.W., Whaley, T.W., Trewhella, J. Glycation of calmodulin: chemistry and structural and functional consequences. Biochemistry 28,2220-2228,1989
- Lee A.T., Cerami A. Role of glycation in aging. Ann NY Acad Sci 663,63-70,1992
- Maillard L.C. Action des acides aminés sur les sucres; formation des melanoidines par voie methodique. C R Acad Sci 154,66-68,1912
- Makita Z., Vlassara H., Cerami A., Bucala R. Immunochemical detection of advanced glycosylation end products in vivo. J Biol Chem 267,5133-5138,1992
- Min C., Kang E., YU S.H., Shinn S.H., Kim Y.S. Advanced glycation end products induce apoptosis and procoagulant activity in cultured human umbilical vein endothelial cells. Diabetes Res Clin Pract 46,197-202,1999
- Miyata T., van Ypersele de Strihou C., Kurokawa K., Baynes J.W. Alterations in nonenzymatic biochemistry in uremia: origin and significance of "carbonyl stress" in long-term uremic complications. Kidney Int 55,389-399,1999
- Monnier V.M. Toward a Maillard reaction theory of aging. Progr Clin Biol Res 304,1-22,1989
- Okitani A., Cho R.K., Kato H., Polymerization of lysozyme and impairment of its aminoacid residues caused by reaction with glucose. Agric Biol Chem 48,1801-1808,1984
- Reynolds T.M. Chemistry of nonenzymatic browning I Adv Food Res 12,1-52,1963
- Sasaki N., Fukatsu R., Tsuzuki K., Hayashi Y., Yoshida T., Fujii N., Koike T., Wakayama I., Yanagihara R., Garruto R., Amano N., Makita Z. Advanced glycation end products in Alzheimer's disease and other neurodegenerative diseases. Am J Pathol 153,1149-1155,1998
- Schmidt A.M., Hori O., Cao R., Yan S.D., Brett J., Wautier J.L., Ogawa S., Kuwabara K., Matsumoto M., Stern D. RAGE: a novel cellular receptor for advanced glycation end products. Diabetes 45,S77-S80,1996
- Sohal RS, Weindruch R. Oxidative stress, caloric restriction, and aging. Science 273,59-63,1996
- Srivastava S.K., Ansari N.H., Bhatnagar A., Hair G., Liu S., Das B. Activation of aldose reductase by nonenzymatic glycosylation. Progr Clin Biol Res 304,171-184,1989

- Taniguchi N., Kinoshita N., Arai K., Iizuka S., Usui M., Naito T. Inactivation of erythrocyte Cu-Zn-superoxide dismutase through nonenzymatic glycosylation. *Progr Clin Biol Res* 304,277-290,1989
- Trump BF, Berezsky IK The role of cytosolic Ca<sup>2+</sup> in cell injury, necrosis and apoptosis. *Curr Opin Cell Biol* 4:227-232,1992
- Vaux DL, Strasser A The molecular biology of apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93,2239-2244,1996
- Vlassara H., Advanced glycation end-products and atherosclerosis. *Ann Med* 28,419-26,1996
- Vlassara H., Brownlee M., Cerami A. Accumulation of diabetic rat peripheral nerve myelin by macrophages increases with the presence of advanced glycosylation endproducts. *J Exp Med* 160,197-207,1984
- Wautier J.L., Guillausseau P.J. Diabetes, advanced glycation endproducts and vascular disease. *Vasc Med* 3,131-137,1998
- Yan S.D., Chen X., Schmidt A.M., Brett J., Godman G., Zou Y.S., Scott C.W., Caputo C., Frappier T., Smith M.A., Perry G., Yen S.H., Stern D. Glycated tau protein in Alzheimer disease: a mechanism for induction of oxidant stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 91,7787-7791,1994
- Ying W. Deleterious network hypothesis of aging. *Med Hypotheses* 48,143-148,1997

## Punteros de Interés

The Glycation Homepage: [www.geocities.com/CapeCanaveral/8824/](http://www.geocities.com/CapeCanaveral/8824/)

78 ways sugar can ruin your health: [www.rheumatic.org/sugar.htm](http://www.rheumatic.org/sugar.htm)

Maillard Reaction: [chemistry.miningco.com/library/weekly/aa122898a.htm](http://chemistry.miningco.com/library/weekly/aa122898a.htm)

## Glosario

**Acidez y basicidad de un grupo químico:** Según la definición de Lewis, un grupo químico es básico o ácido cuando, al participar en una reacción química determinada, cede o acepta, respectivamente, un par de electrones que pasará a formar un enlace covalente entre los grupos reaccionantes. El grado de basicidad (o acidez) de un grupo dependerá de la mayor o menor tendencia de dicho grupo para ceder (o captar) estos pares de electrones.

**Actividad enzimática:** Los catalizadores proteicos llamados enzimas, como todos los catalizadores, incrementan la velocidad de las reacciones químicas en las que participan. La velocidad con que transcurre la reacción catalizada por una enzima depende de la cantidad de la misma. El valor de dicha velocidad expresado por unidad de masa (o por mol) de enzima se denomina actividad enzimática.

**Anómeros cíclicos:** Los azúcares sencillos consiguen su estructura más estable a través de la unión entre el grupo carbonilo de un extremo de la molécula con un grupo hidroxilo del otro extremo. Estas estructuras cíclicas se denominan anómeros.

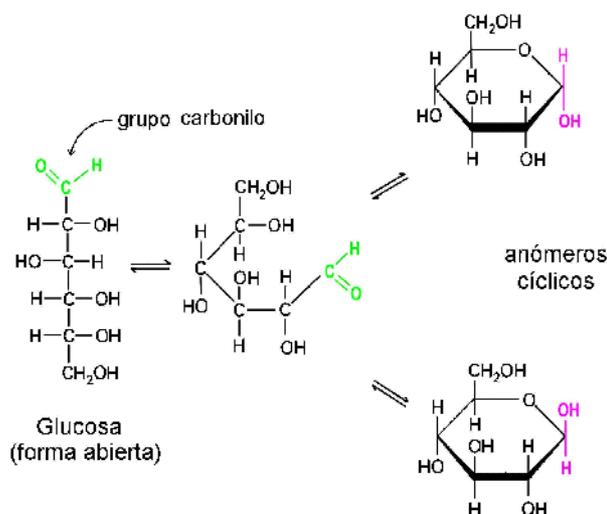


FIGURA 3: Anómeros cíclicos de la glucosa

### Azúcares reductores

Son aquellos azúcares que poseen su grupo carbonilo intacto, y que a través del mismo pueden reaccionar con otras especies.

### Catalizadores ácido-base

Los catalizadores son especies químicas que modifican la velocidad de una reacción sin modificar la constante de equilibrio y sin sufrir, una vez finalizada la catálisis, modificaciones en su estructura. Si en el proceso de catálisis el catalizador actúa como un ácido o una base, el proceso se denomina catálisis ácido-base.

### Equilibrio termodinámico

Un sistema está en equilibrio cuando alcanza su estado más estable, en el cual no ocurren cambios en función del tiempo. Si una perturbación aleja al sistema del equilibrio este retornará espontáneamente al mismo. En el caso del equilibrio

químico las concentraciones de las especies químicas que participan del mismo mantendrán una relación constante entre sí denominada constante de equilibrio.

### **Glucosilación de proteínas in vitro e in vivo**

Un ensayo de glucosilación in vivo consiste en determinar los cambios producidos en proteínas de un organismo que han estado expuestos a altas concentraciones de glucosa durante períodos prolongados como ocurre en el caso de individuos diabéticos descompensados. Los sistemas vivos presentan al investigador el inconveniente de que existe una gran cantidad de variables que son difíciles de controlar. El estudio detallado de estos procesos debe entonces complementarse con estudios donde la proteína es aislada del organismo y sometida a la acción de la glucosa en un (tubo de ensayo), esto es en un medio de composición química perfectamente conocida (in vitro).

### **Grupo funcional**

Se denomina así al átomo o grupo de átomos que define la estructura y propiedades químicas de una familia específica de compuestos.

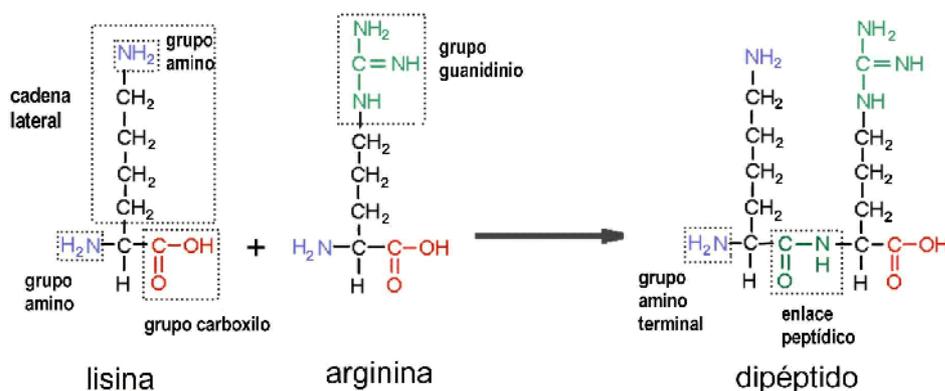
El grupo amino es un grupo funcional cuyo átomo central es un átomo de nitrógeno que posee un par de electrones libres, el cual confiere a los compuestos que los poseen carácter básico. El grupo  $\text{-NH}_2$  representado en las figuras 1 y 3 (donde el átomo de nitrógeno está unido a dos átomos de hidrógeno y a una cadena carbonada) se denomina grupo amino primario. Además, existen grupos amino secundarios y terciarios donde uno o dos de los átomos de hidrógeno son reemplazados por cadenas carbonadas.

El grupo carbonilo es un grupo funcional cuyo átomo central es un átomo de carbono que está unido a un átomo de oxígeno a través de dos pares de electrones (enlace doble). Como el átomo de oxígeno posee una muy alta tendencia a atraer electrones deja al carbono con una deficiencia de carga electrónica que le confiere una elevada capacidad de reacción frente a otros grupos.

El grupo carboxilo es un grupo funcional que resulta de la unión de un grupo hidroxilo ( $\text{-OH}$ ) al átomo de carbono perteneciente a un grupo carbonilo. El grupo hidroxilo, en el cual un átomo de oxígeno está asociado a uno de hidrógeno, es el que confiere casi todas las propiedades químicas al grupo funcional (pérdida o reemplazo del hidrógeno el cual cede al oxígeno su electrón y confiere a la molécula que lo posee un marcado carácter ácido). Estas propiedades del hidroxilo sólo son posibles por la presencia del grupo carbonilo en este grupo funcional.

## Péptidos y Proteínas

Conjunto de aminoácidos unidos entre sí mediante enlaces peptídicos formando una cadena. La porción de cada aminoácido que permanece en la cadena se denomina residuo de aminoácido. Una cadena polipeptídica de secuencia definida se pliega en el espacio adquiriendo una estructura particular, denominada estructura nativa de la proteína, que es la más estable.



**FIGURA 4:** Formación de un enlace peptídico entre dos aminoácidos. En la naturaleza existen 20 aminoácidos diferentes de cuya combinación se generan las diversas proteínas. A modo de ejemplo se muestra la formación de un dipéptido entre la lisina y la arginina que son los aminoácidos implicados en los procesos de glicosilación.

## Reacciones de adición

Son reacciones en las que dos moléculas se asocian entre sí originando un único producto.

## Recambio de una proteína

Es el balance entre la síntesis y degradación de una proteína. En un organismo vivo, la concentración de la mayoría de las proteínas permanece constante. Este nivel estacionario es mantenido por la síntesis a una velocidad suficiente como para reemplazar a la proteína que se degrada. Las proteínas de alto recambio son aquellas que se sintetizan y degradan rápidamente. Se dice, entonces, que tienen vida media corta.

Los doctores **F. Luis González Flecha**, **Pablo R. Castello** y **Juan Pablo F.C. Rossi** son docentes e investigadores del Instituto de Química y Físicoquímica Biológicas, Universidad de Buenos Aires - CONICET. El doctor **Juan J. Gagliardino** del Centro de Endocrinología Experimental y Aplicada, Universidad Nacional de La Plata - CONICET. Han publicado más de 150 trabajos en revistas internacionales de su especialidad.