



# Biofísica Integrativa de las Interacciones Moleculares de Diabetes Mellitus Tipo 2 y Enfermedad de Alzheimer

---

Ciclo de Metodología Científica II-2017

Grupo 33

Docente orientador - Prof. Adj. Horacio Botti

Departamento de Biofísica  
Facultad de Medicina

Amarillo, Estefanie  
Battaglia, Fiorella  
Brienza, Lucia  
Bouzón, Belén  
Martínez, Romina  
Romano, Lourdes

## Tabla de contenido

Resumen.....	3
Introducción.....	4
Objetivos.....	10
Metodología.....	10
Resultados.....	13
Conclusiones.....	18
Referencias bibliográficas.....	19
Agradecimientos.....	25
Anexos.....	26

## Resumen

La Diabetes Mellitus Tipo 2 (DMT2) y la enfermedad de Alzheimer (EA) son enfermedades de creciente prevalencia relacionadas con el envejecimiento y capaces de interactuar (1) (2) (3) (4). Algunos autores sostienen que existiría aún en ausencia de DMT2 una enfermedad hoy indistinguible del Alzheimer esporádico que sería causada por resistencia a la insulina a nivel del SNC. Dicha entidad nosológica propuesta ha sido denominada como Diabetes Cerebral (5) o Diabetes Mellitus Tipo 3 (6). Por otro lado, aunque las enfermedades neurodegenerativas son de carácter sistémico, se conoce poco el rol normal o patogénico de varios genes, sus productos y/o variantes asociados a la EA sobre el metabolismo a nivel periférico.

Hipotetizamos que existen fuertes lazos moleculares entre genes asociados a la DMT2 y la EA que podrían justificar la búsqueda de alteraciones metabólicas periféricas en la EA que interactúen con la DMT2 (7).

La Biofísica Computacional es central para la Biomedicina Integrativa, la que a su vez puede ser vista como una respuesta a la necesidad de investigar procesos complejos como las enfermedades crónicas y sus interacciones a nivel molecular y en distintos niveles de complejidad (8). Estos enfoques han sido ya empleados para estudiar relaciones entre la DMT2 y la EA (9).

El objetivo de este trabajo es definir rutas moleculares de interacción entre genes afiliados a estas dos enfermedades en comparación con otras enfermedades relacionadas, inferir detalles del diálogo de estos genes en hepatocitos. Se utilizará información disponible para generar nuevo conocimiento, recurriendo a bases libres y gratuitas de datos de información variada (de estudios de amplitud genómica de asociación génica, de transcriptómica, etc.). La inferencia y el análisis de redes se realizarán en R y usando software gratuito.

**Palabras clave:** Alzheimer; Diabetes Mellitus; insulinoresistencia; hepatocito; bioinformática.

## Introducción

### *ENFERMEDAD DE ALZHEIMER*

La Enfermedad de Alzheimer representa el 60-80% de los casos de demencia (10). Se trata de una enfermedad neurodegenerativa, es decir, con muerte de poblaciones específicas de neuronas y en la mayoría de los casos, de aparición tardía. La demencia se caracteriza clínicamente por un deterioro progresivo de las funciones cognitivas, del comportamiento y la personalidad (11).

El diagnóstico presuntivo de demencia por enfermedad de Alzheimer (o simplemente EA) es clínico, mediante evaluaciones neuropsicológicas de la memoria, la función intelectual y el lenguaje. Pueden realizarse pruebas de laboratorio pareado de A $\beta$ 42 y Tau Fosforilada en líquido cefalorraquídeo (LCR) y suero, así como neuroimágenes estructurales y funcionales, los que pueden apoyar el diagnóstico (12).

De acuerdo a la OMS, la enfermedad se clasifica en cuatro tipos: 1) EA tipo 1, que es esporádica y de inicio tardío (inicio clínico luego de los 65 años); 2) EA tipo 2, familiar de comienzo en la edad adulta y de rápida progresión); 3) EA atípica o combinada (con otras enfermedades que causan demencia) y 4) EA no especificada (de origen incierto) (13). La forma esporádica (tipo 1) representa el 95% de los casos de EA (14). La enfermedad de Alzheimer de tipo 1 (EAT1) es poligénica y de herencia autosómica dominante (15).

De acuerdo con la hipótesis amiloidea, se cree que la EAT1 se produciría por la falla en la depuración del péptido beta amiloide (A $\beta$ ) (15), que al igual que su síntesis se encuentra regulada por el colesterol (15). La acumulación progresiva de placas neuríticas extracelulares de A $\beta$  (10) y la formación de ovillos neurofibrilares intracelulares (“NFTs”, del inglés “Neurofibrillary Tangles”) en la corteza límbica se asocian con un efecto tóxico en las neuronas y en la sinapsis, propiciando la microgliosis y astrocitosis reactivas (respuesta inflamatoria), alteración iónica y daño por especies reactivas del oxígeno que actúan inhibiendo receptores de neurotransmisores, causando hipoxia, isquemia y resistencia a la insulina (16). El déficit de insulina, IGF-1, e IGF-2 a nivel cerebral y alteraciones en los mecanismos de señalización, se correlacionan con la reducción de la expresión de colina O-acetiltransferasa, enzima necesaria para producir acetilcolina (12). La fosforilación aberrante de la proteína tau por activación inapropiada de quinasas lleva a la disfunción sináptica y neuronal (distrofia neurítica) y resulta en muerte celular (12, 16, 17). Los oligómeros solubles de A $\beta$  son más citotóxicos que las fibras que componen las placas, éstas inician en regiones del complejo hipocámpal y locus ceruleus (10). La progresión de tau sigue un patrón de propagación desde la corteza trasentorrinal a todas las subdivisiones del neocórtex

(10). La neurodegeneración se manifiesta por atrofia de sustancia blanca y de estructuras mediales temporales con pérdida de neuronas y terminales sinápticas (12). Se han identificado cierto número de genes que por sus mutaciones, polimorfismos y su interacción con otros factores, serían una base desde donde comenzar a explicar su etiopatogenia (17). Dentro de ellos, APP (cromosoma 21) es el gen que codifica para una proteína transmembrana, que por proteólisis da origen a los péptidos A $\beta$  de diferentes longitudes que se depositan en las placas seniles. Algunas mutaciones reportadas para este gen llevan a la formación de una proteína mal plegada y a la variante A $\beta$ 43 del péptido, que es un prion altamente agregatorio (10). Sin embargo, el gen más importante entre los implicados en la patogénesis de la EAT1 es apolipoproteína E (APOE), que codifica para una de las mayores apolipoproteínas plasmáticas y se cree es la principal proteína transportadora del colesterol en el cerebro (16). Su variante alélica APOE  $\epsilon$ 4, es frecuente y aumenta el riesgo hasta 15 veces para desarrollar EAT1 en individuos homocigotos (16). Una proteína codificada por el gen ABCA1 (“ATP Binding Cassette Subfamily A Member 1”) controla el nivel de APOE y su estado de lipidación, que siendo alto, une A $\beta$  de forma más eficiente limitando su agregación (15). Las otras variantes, APOE  $\epsilon$ 2 y particularmente APOE  $\epsilon$ 3, cumplen con dicha actividad con mayor potencia (15). El transporte del complejo APOE y A $\beta$  a través de barrera hematoencefálica (BHE) y la endocitosis de las células del cerebro están mediados por vesículas recubiertas de Clatrina, que contienen los receptores de lipoproteína de baja densidad (receptor de LDL, codificado por el gen LPR1), cuyo mal funcionamiento lleva a una disminución del clearance de A $\beta$  del cerebro (15). APOE  $\epsilon$ 4 es menos eficiente en su función y redirecciona el clearance de A $\beta$  desde LPR1 a VLDLR quien internaliza APOE  $\epsilon$ 4 y el complejo APOE  $\epsilon$ 4 /A $\beta$  más lento a la BHE que LRP1.

Otros genes involucrados son ABCA7, BIN1, CR1, GAB2, GALP, ABCA7, TNK1, TREM2, PICALM y CLU; participan en el transporte de membrana, endocitosis, sistema inmunológico y/o metabolismo de los lípidos (15).

Las proteínas codificadas por CD2AP, PICALM, BIN1 y ABCA1 se relacionan con múltiples interacciones proteicas (15). El análisis de redes ha demostrado que estas tres últimas y APOE están fuertemente asociadas con la EA. De hecho, el conjunto de genes relacionados al metabolismo y tráfico del colesterol se relacionan con el clearance de beta-amiloide (16). La enzima AMPK está vinculada a diferentes funciones moleculares que se alteran en la EA, tales como defectos en la captación de glucosa, disfunciones mitocondriales y alteración de las vías de autofagia. Estudios recientes sugieren un papel de la AMPK en la modulación de la fosforilación de la proteína tau y amiloidogénesis (18). La desregulación de diversos factores metabólicos y la homeostasis energética, posiblemente

determinada por el proceso de envejecimiento, juegan un papel clave en la EA. Estos procesos posiblemente implican neuropéptidos y, en particular, AMPK (18). AMPK parece también desempeñar un rol en el acoplamiento del metabolismo energético a la plasticidad neuronal, vinculando así la deficiencia energética a la alteración de la transmisión sináptica y el deterioro de la memoria. Esto posiblemente podría explicar cómo la memoria podría ser controlada por el metabolismo energético, la organización del citoesqueleto y otros procesos biológicos relevantes para la supervivencia neuronal (18). Por otra parte, la ubiquitina es una proteína altamente conservada, señal molecular que actúa en la membrana, el núcleo y el citoplasma de la célula eucariota (10). Una de sus muchas funciones es dirigir el metabolismo de proteínas, siendo esencial para la proteostasis (10). La ubiquitina puede unirse covalentemente a proteínas y marcarlas para su destrucción (10). El marcaje de ubiquitina dirige las proteínas al proteosoma, que es un gran complejo de proteínas que encontramos en la célula y que degrada y recicla proteínas innecesarias a pequeños péptidos. La disfunción proteosomal por una forma mutante de ubiquitina B (UBB + 1), en combinación con el estrés oxidativo está asociados con neurodegeneración (10). Otro mecanismo observado en la enfermedad es la neuroinflamación, que promueve el daño neuronal y disfunción colinérgica; esto a su vez induce especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno que producen daño en los nervios, disfunción sináptica, resistencia a la insulina y al IGF1, inhibe la expresión y función de la incretina, y ésta a su vez inhibe citoquinas proinflamatorias como el TNF alfa (12). La proteína Nlrp3 es un sensor del sistema inmune innato que participa del complejo macromolecular conocido como inflamósoma (19). Este complejo puede ser activado en respuesta a la integración de diversas señales endógenas metabólicas que inducen inflamación en ausencia de infección. Nlrp3 puede ser activado en respuesta a ácidos grasos lipotóxicos, ceramidas, colesterol libre, ácido úrico, entre otros. Nlrp3 regula a la caspasa 1, que es necesaria para la maduración y secreción de IL-1BETA e IL18, las cuales regulan la inflamación inducida por obesidad e insulinoresistencia (20). En un estudio se observó que el envejecimiento está asociado con aumento de IL18 y del receptor antagonista de IL1 (IL-1RA) e IL-6, mientras que los niveles circulantes de IL-1BETA resultaron indetectables (20). Se ha reportado que el inflamósoma puede participar de la inducción de astrogliosis hipocampal e inflamación en SNC relacionada con el envejecimiento (20).

### *DIABETES MELLITUS TIPO 2*

La frecuencia de DM ha aumentado en las últimas cuatro décadas en forma exclusiva a expensas del tipo 2 (DMT2). A nivel mundial, en el año 1955 existían 135 millones de pacientes con esta

enfermedad (21), estimaciones recientes indican que había 171 millones en el año 2000 y se estima 366 millones para el 2030 (22). Se diferencia una mayor prevalencia en el sexo femenino y en el grupo etario entre 45 y 65 años, así como en países desarrollados respecto a los en vías de desarrollo, aunque el incremento en estos últimos será mayor en países en desarrollo y presentará una distribución por sexo con mayor predominio femenino (21). En Latinoamérica la prevalencia de DMT2 en menores de 30 años es menor del 5% y después de los 60 aumenta a más del 20% (22).

La DMT2 es una enfermedad crónica no transmisible, resultado de un desorden metabólico multifactorial que conlleva una alteración en el metabolismo de lípidos, hidratos de carbono y proteínas (22). La hormona que tiene la mayor responsabilidad en la regulación del transporte de la glucosa a los tejidos es la insulina; la hiperglicemia es la consecuencia de defectos en la secreción y/o acción de esta hormona. La hiperglicemia crónica y la desregulación crónica concomitante se asocian a lesiones secundarias en múltiples órganos y tejidos, especialmente riñones, la retina, nervios y vasos sanguíneos (23). Por último, interesa mencionar que, existe un rango de valores de glicemia que, pese a no ser diagnósticas de diabetes, representan estados pre-diabéticos como ser la intolerancia a la glucosa y la alteración de la glicemia en ayunas. Estos constituyen estados de transición entre la normalidad y la diabetes y conllevan un mayor riesgo de progresar hacia la DMT2 y las consecuencias de éste síndrome (23).

Para realizar el diagnóstico de Diabetes se debe cumplir con al menos uno de estos criterios: una glicemia venosa casual mayor de 200mg/dl con síndrome diabético precoz (poliuria, polidipsia, pérdida de peso sin motivo aparente), glicemia venosa en ayunas (al menos 8 horas) mayor o igual a 126 mg/dl o una glicemia venosa  $\geq 200$ mg/dl luego de dos horas de una carga de glucosa de 75grs disueltos en 300 ml de agua, en una prueba de tolerancia a la glucosa. Las glicemias capilares son útiles para el control de la enfermedad pero no son diagnósticas (24).

Al principio, la enfermedad es asintomática, por ello generalmente se llega al diagnóstico cuando se encuentra evolucionada y suele existir ya repercusión en órganos blanco. Esta enfermedad multifactorial sistémica tiene una cantidad importante de complicaciones ya sean agudas como la cetoacidosis, síndrome hiperosmolar no cetósico e hipoglicemias; o crónicas, las que pueden dividirse en la microangiopáticas (neuropatía, retinopatía y nefropatía diabética), y macroangiopáticas (cardiopatía isquémica, accidente cerebrovascular, artropatía periférica) (25).

Los distintos tipos principales de DM difieren en sus etiopatogenias, la gran mayoría de casos corresponden a dos clases principales: Diabetes Mellitus Tipo 1 y Tipo 2. La DM tipo 1 (DMT1) es causada por la destrucción específica de las células  $\beta$  pancreáticas secretoras de insulina, suele

conducir a una deficiencia absoluta de insulina (24). Aunque existen casos idiopáticos, la mayoría está relacionada a autoinmunidad (24). Los marcadores de la destrucción inmune cita incluyen autoanticuerpos contra las células de los islotes, autoanticuerpos contra la insulina, autoanticuerpos contra ácido-glutámico-descarboxilasa (GAD65) y autoanticuerpos contra las tirosina fosfatasas IA-2 y IA-2 $\beta$ . Usualmente más de uno de estos autoanticuerpos están presentes en el 85-90% de individuos cuando se detecta inicialmente la hiperglucemia en ayunas (24). Además, existiría una predisposición génica, relacionada con halotipos del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA) vinculada a los genes DQA y DQB y esto bajo influencia de los genes DRB. Alelos HLA-DR / DQ pueden ser predisponentes o protectores, sobre esta predisposición genética actuarían factores ambientales (23).

La DMT2, en cambio, no tiene relación con antígenos HLA ni con problemas inmunitarios ni infecciosos conocidos, los pacientes no necesitan tratamiento insulínico, al menos inicialmente (24). .Es una enfermedad compleja poligénica de herencia autosómica dominante en la que inciden factores ambientales (obesidad, sedentarismo, dieta) e individuales (etnia, edad, sexo, patologías concomitantes). Desde el punto de vista fisiopatológico, se observa una combinación de resistencia tisular a la acción de la insulina y un defecto más o menos evidente de la secreción de la misma (25). Es el tipo más frecuente, representando el 90 a 95% de los casos de diabetes (26). La alteración patológica del páncreas en la DMT2 es muy variable, al igual que su etiología. Durante la evolución de la enfermedad se produce una pérdida apoptótica de células beta (25). Pacientes con este tipo de DM tienen mayor riesgo de desarrollar complicaciones macrovasculares y microvasculares (21, 23).

La diabetes mellitus gestacional (DMG) caracterizada por hiperglucemia que aparece durante el embarazo. Estas pacientes deben reclasificarse a los 6 meses del embarazo, ya que la mayoría normalizarán sus valores de glicemia (24). Existen otros tipos específicos de diabetes menos frecuentes como ser: defectos monogénicos en la función de la célula  $\beta$  que afecta su masa y/o la producción de insulina; defectos genéticos en la acción de la insulina provocando una intensa resistencia a la insulina; enfermedades del páncreas exocrino, procesos adquiridos incluyen pancreatitis, trauma, infección, pancreatectomía y carcinoma pancreático, etc. (25).

### *DIABETES MELLITUS TIPO 3*

Existe evidencia para considerar a la EA esporádica como una enfermedad neuroendocrina, lo que algunos autores llaman “Diabetes tipo 3” por existir una disminución del número de receptores de insulina, generando una alteración en la señalización de la misma a nivel cerebral y relacionarse ello con la muerte celular (27, 28, 29, 30). En el año 2005 un equipo de



neuropatología de la Universidad de Brown de Estados Unidos liderado por Suzanne de la Monte estudió el cerebro de 45 humanos post mortem de pacientes con EA. Encontraron relación negativa de dicha enfermedad con la expresión de la insulina y disminución de los receptores para la misma a nivel cerebral en comparación con personas que no padecen de EA (30, 31).

Histopatológicamente EA y DMT2 comparten estrés oxidativo, marcadores de inflamación, productos de glicosilación avanzados, disfunción vascular. En ambas enfermedades está presente también la inflamación del sistema nervioso, otro factor que influye para considerar la relación entre EA y DMT2 (25, 30, 31, 32, 33). Además EA es un factor de riesgo para desarrollar DMT2 y viceversa reafirmando aún más su relación (27, 29, 32, 34). La DMT2 suele iniciarse mucho antes que la demencia por EAT1, por lo que si existiera un vínculo patogénico, intervenciones preces y bien dirigidas contra la DMT2 y la prediabetes podrían disminuir el riesgo de desarrollar EA mas tarde.

Es conocida la existencia de receptores de insulina en áreas del cerebro relacionadas con procesos cognitivos como son hipotálamo, hipocampo, cerebelo y a nivel de las glías (28, 29, 33). La resistencia de insulina lleva a un aumento de la misma a nivel periférico y un descenso de los receptores encargados de su transporte a nivel de la barrera hematoencefálica produciendo una reducción a nivel del sistema nervioso central de esta hormona. La resistencia a la insulina está involucrada en el desarrollo de ambas enfermedades, siendo implicada en la modulación del depósito de la proteína beta amiloide, en la hiperfosforilación de la proteína Tau -componente principal del ovillo neurofibrilar característico de la EA- y del polipéptido amiloide en los islotes pancreáticos. (27, 28, 29, 30, 32). La DMT2 así como la resistencia a la insulina y la edad avanzada contribuyen a la inflamación periférica, esto conlleva a la neuroinflamación y a la señalización defectuosa de la insulina mencionada anteriormente (25).

Por otro lado, diferentes estudios sugieren la existencia de una acción positiva de la insulina sobre procesos cognitivos como aprendizaje y memoria. Esto podría deberse a su influencia sobre la plasticidad sináptica y la participación de esta en la memoria (28, 29, 31, 34).

Si se considerase a la DMT3 como una enfermedad se podrían generar políticas sanitarias acordes tendientes a lograr evaluaciones de riesgo y un diagnóstico temprano de la EA. La consideración de la DMT3 como enfermedad también podría promover alternativas farmacológicas y en los cuidados de los pacientes con DMT2, actuando positivamente en la calidad de vida (27, 29, 30, 31, 32).

#### *ESTUDIO DE REDES*

Las redes son estructuras matemáticas llamadas grafos formadas por nodos conectados por aristas. Las redes presentan características estadísticas propias que se definen en parte mediante medidas globales que permiten comparar sus similitudes y ajuste con distintos modelos matemáticos. Algunas de estas medidas globales son: número de nodos, el número de aristas, el grado medio, el diámetro, el coeficiente de agrupamiento medio, etc. (35)

El grado de un nodo se define como el número total de sus conexiones. La distribución de grados de los nodos en una red viene dado por la función de distribución  $P(k)$ , que es la probabilidad de que un nodo seleccionado al azar tenga exactamente  $k$  enlaces (35).

Por otra parte, “clustering” refiere a la agrupación de los nodos de la red. El coeficiente medio de clustering es la proporción media de pares de vecinos de un nodo que también son vecinos entre sí (35).

## Objetivos

El objetivo general es contribuir al conocimiento científico de las relaciones moleculares entre la DMT2 y la EA.

Objetivos específicos

1. Construir y analizar redes de genes afiliados a enfermedades neurodegenerativas y metabólicas de modo de establecer características de las interacciones moleculares de estas enfermedades, realzando las relaciones entre DMT2 y EA
2. Extender estas redes infiriendo genes corregulados a nivel de hepatocitos humanos y analizar las redes resultantes.

## Metodología

**A. Colecta de datos de genes asociados a enfermedades.** Descargamos información disponible en la base de datos pública MalaCards (<http://www.malacards.org/>). MalaCards, clasifica las enfermedades humanas en base a recomendaciones de diversas autoridades sanitarias, entre ellas la OMS. Se utilizaron los conjuntos de términos “Diabetes Mellitus” y “Alzheimer’s Disease” y se escogieron las categorías de enfermedad correspondientes a las enfermedades DMT2 ([http://www.malacards.org/card/diabetes\\_mellitus\\_noninsulin\\_dependent?search=Diabetes%20Mellitus](http://www.malacards.org/card/diabetes_mellitus_noninsulin_dependent?search=Diabetes%20Mellitus)) y Enfermedad de Alzheimer esporádica ([http://www.malacards.org/card/alzheimer\\_disease?search=alzheimer%27s%20disease](http://www.malacards.org/card/alzheimer_disease?search=alzheimer%27s%20disease)). Se descargaron las listas completas de genes asociados a las enfermedades y sus scores contenidos

en las tablas “Genes for Diabetes Mellitus Non-insulin Dependent” y “Genes for Alzheimer's Disease”. Un procedimiento equivalente se usó para descargar información para otras enfermedades neurodegenerativas y metabólicas. La información en gran medida deriva de estudios de asociación de amplitud genómica (GWAS). La información se almacenó en archivos de texto plano generados y editados con WinVi y en Libros de Microsoft Excel (MSE).

Para recabar información sobre relaciones moleculares se utilizaron las siguientes bases de datos: Kegg <http://www.genome.jp/kegg/pathway.html>, Transfind <http://transfind.sys-bio.net/>, Reactome <http://reactome.org/>, Pathcards <https://pathcards.genecards.org/>, Genecards <http://www.genecards.org/>, BiodbNet <https://biodbnet-abcc.ncifcrf.gov/>. Se buscaron los roles específicos de cada gen compartido por ambas enfermedades, las vías de señalización en las que estos participan, y los factores de transcripción que los regulan. A partir de estos datos se construyó un mapa de posibles conexiones utilizando Celldesigner.

**B. Representación y análisis de redes.** Usamos un conjunto integrado de software en lenguaje R para la manipulación de datos, cálculo y visualización gráfica de redes así como para generar un archivo de salida en formato gexf para intercambio con los programas Gephi y Cytoscape. Generamos archivos de entrada de texto plano separado por tabulaciones con extensión csv o txt, que consisten en tablas de nx3, siendo n el número de filas y 3 el de columnas. Cada fila contiene información de los nodos que se encuentran relacionados y del peso de la relación.

**Colecta de datos transcriptómicos e inferencia de redes transcriptómicas en hepatocitos.** Se descargaron datos públicos disponibles en Array Express <https://www.ebi.ac.uk/arrayexpress/> correspondientes al experimento de microarreglos de DNA E-MTAB-798 (<https://www.ebi.ac.uk/arrayexpress/experiments/E-MTAB-798/>). Este experimento se eligió por su alto contenido de información. En él, se utilizaron cultivos primarios de hepatocitos humanos y el chip HG-U133\_Plus\_2 de Affymetrix conteniendo 51338 grupos de sondas (Station F, Genechip TA. GeneChip® Human Genome U133 Plus 2.0 Array. Library (Lond). 2003;(April 2001):1-2). El conjunto de datos contiene tres bloques (796-798). Se estudiaron las respuestas transcriptómicas de las células a 130 químicos incluyendo varios fármacos de uso clínico y vehículos, con efectos de dosis y tiempo, totalizando 2004 ensayos, y 102.881.352 puntos de datos. Se procesaron los datos crudos usando "affy" and "ArrayExpress". Se usó el método RMA para la normalización; y la información se almacenó en un marco de datos “data frame” (de dimensiones 51338x2004, filas x columnas).

**Agrupamiento de datos. (G-Cluto)** Se utilizó G-Cluto para dividir las 51388 sondas en grupos, de acuerdo con los datos de correlación provenientes de los microarrays de hepatocitos (<https://www.ebi.ac.uk/arrayexpress/experiments/E-MTAB-923/>). Se construyó una tabla

de Excel con los resultados de G-Cluto y se creó un archivo de entrada csv para Igraph. Luego se elaboró una red donde los nodos representan los clusters obtenidos. Se utilizó la función básica lm en R para calcular estadísticos de correlación y regresión lineales. Se contó con datos ya procesados localmente usando paquetes disponibles en R. Utilizando Gephi se identificó clusters correspondientes a cada gen y enfermedad a la que pertenecen, para determinar si los genes comparten uno o más clusters.

**Análisis de variantes de splicing (SpliceCenter)** Para saber si los genes se anticorrelacionan se buscaron aquellos que estaban incluidos en diferentes clusters y se realizó una gráfica de dispersión utilizando Origin© para visualizar los resultados, donde cada eje corresponde a los valores de correlación lineal de Pearson y a cada uno de los probeset.

**Comparación entre enfermedades neurodegenerativas y metabólicas** Se utilizaron R y Gephi para visualizar la interacción de los genes en base a su “peso” (Score) con cada enfermedad y también los genes coincidentes entre ambas. Se consideraron 7 enfermedades metabólicas y 6 neurodegenerativas: Hipertensión, Factor de Crecimiento Insulínico Tipo 1, Hipertrigliceridemia, Obesidad, Diabetes Mellitus T1, Aterosclerosis, Síndrome Metabólico, Enfermedad De Cuerpos de Lewy, Enfermedad de Huntington, Ataxia de Friedreich, Esclerosis Lateral Amiotrófica, Atrofia Muscular Espinal y Enfermedad de Parkinson.

En base al número total de genes y el número de genes coincidentes entre cada par de enfermedades se obtuvieron las frecuencias absolutas y relativas de genes compartidos. Se organizaron los datos obtenidos en tablas de doble entrada con las frecuencias relativas y las absolutas. A partir de estas se construyeron tablas con los promedios de dichos datos utilizando la función de Excel: PROMEDIO. Se estudió cómo se agrupan las enfermedades de la Tabla 1, las interacciones entre ellas y la estructura en comunidades. Con Gephi se otorgaron valores al parámetro resolución para así obtener la bipartición de la red en módulos.

**Evaluación de la distribución de pesos de los genes relevantes para cada enfermedad.** Para poder observar la distribución se realizó un histograma a través de Excel©. Se graficaron los pesos de cada gen según el Score aportado por Malacards y se aplicó la función de logaritmo en base de diez en los scores. El eje x representó la diferencia entre el valor de peso mayor y el menor de los genes involucrados en EA sobre el cociente de intervalos, de modo que el mismo quedó dividido en 10 intervalos regulares. Se asume distribución uniforme. En el eje de las y se colocaron las frecuencias absolutas del total de 182 genes. Se realizó el mismo procedimiento para DM2, donde la frecuencia absoluta fue sobre un total de 164 genes. Se utilizó Origin© para algunos gráficos y para ajustar datos a distintas funciones.

**Estudio de los factores de transcripción y degradación que regulan la expresión de GAEPs comunes.** Para obtener los factores de transcripción de los ocho genes a estudiar se utilizó la

base de datos de genes humanos Genecards (<http://www.genecards.org/>). Para analizar la importancia en cada enfermedad se seleccionaron los más relevantes otorgados por la base de datos SABiosciences (<http://www.sabiosciences.com/>) conocida como DECODE. (Tabla 1 anexos). Para observar mecanismo de corregulación se utilizó el servidor web de libre acceso <http://transfind.sys-bio.net/> (toma como fundamento que un factor de transcripción regula más de un gen a la vez). Se construyó una tabla con los resultados significativos de forma predeterminada (tasa de descubrimiento falso (FDR) menor a  $<0,05$ ). El p-value se realiza utilizando test de Fisher, no recomiendan utilizar estos valores para interpretar los datos sino utilizar los valores corregidos por FDR. La tasa de descubrimiento falso es una predicción estadística de cuantos resultados se pueden esperar que sean falsos, en este caso menor al 5% de los factores de transcripción estarán equivocados. “FP” es el número de falsos positivos estimados para este p-value (1).

## Resultados

Con los datos obtenidos de Malacards, encontramos que existen ocho genes que participan tanto en la Enfermedad de Alzheimer como en la Diabetes Mellitus tipo 2 (Fig.1)). Hasta el momento no se ha encontrado en la literatura la vinculación del conjunto de genes con ambas entidades. Considerando la ubicación cromosómica, tamaño, orientación, secuencia, tipo (codificador de proteínas, de ARN, etc.), vía de señalización, este grupo no tiene características comunes (Tabla 1). A pesar de que no comparten factores de transcripción principales, si comparten un conjunto de factores de transcripción de menor relevancia (Tabla 2). Sin embargo, todos estos genes son codificadores de proteínas.

Además, AGER y TNF se ubican en el cromosoma 6 (p21.32 y p21.33; genecards), NOS3, OGT y TNF comparten la vía de resistencia a la insulina (kegg); APOE, LPL y TNF comparten la vía de la Enfermedad de Alzheimer (kegg).

Este grupo de genes no son de alto peso en los score de las bases de datos utilizadas, por lo que realizamos histogramas con diez categorías de cada enfermedad (fig. 2), con la intención de comparar las frecuencias esperadas y observadas en este grupo de ocho. (Tabla 3). Como puede verse en la figura 2, tanto la distribución para DMT2 como para EA no es normal, con características de una distribución exponencial más una distribución en pico (explicación en anexo1). Esto complicó el análisis estadístico de la información, no pudiendo aplicar tests paramétricos y la mayoría de los no paramétricos, quedando por excluir tests de bondad de ajuste multinomial de Hermite (Explicación en Anexo).

Este grupo de ocho genes no es compartido por otras enfermedades metabólicas o neurodegenerativas, Es notable como la clasificación convencional y la bipartición en módulos coinciden perfectamente (fig. 3A).

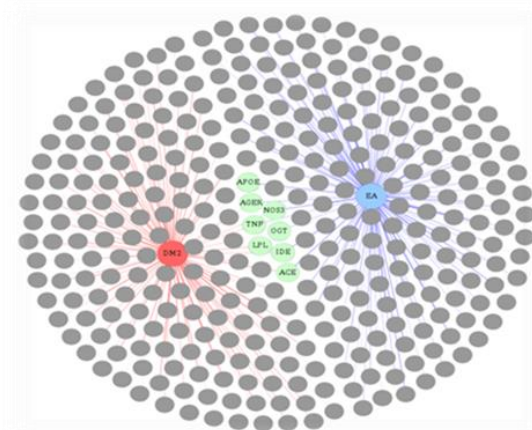
Podemos decir que las enfermedades neurodegenerativas presentan mayor número de coincidencias genéticas con EA que las enfermedades metabólicas con la misma enfermedad. Y en cuanto a la DMT2 que tiene mayor número de coincidencias con las enfermedades metabólicas que con las neurodegenerativas (Tabla 2).

A su vez en la tabla 3 de anexos, se pueden ver 2 bloques definidos; uno con las enfermedades metabólicas y DMT2 en el que es mayor el promedio de coincidencias genéticas (35 genes) y otro bloque con las enfermedades neurodegenerativas y EA en el que el promedio de coincidencias en general es menor (14 genes).

En cuanto a la tabla 4 de anexos; EA presenta 8 coincidencias con DMT1 y 8 con DMT2, que nos son exactamente los mismos, sino que difieren en 4 genes, y coinciden en 4, estos son: ACE, LPL, NOS3 y TNF.

También debemos destacar que entre las enfermedades neurodegenerativas elegidas existen 2; Ataxia de Friedreich y Atrofia Muscular Espinal, que no presentaron ninguna coincidencia con EA, pero si 1 coincidencia con DMT2 cada una.

En las diferentes combinaciones utilizadas, EA y DMT2 formaron comunidades separadas con las enfermedades neurodegenerativas y las metabólicas respectivamente de forma constante en cuanto al grupo que correspondía a cada una, excepto en un caso en el que, al quitar una enfermedad neurodegenerativa de la red (Enf. De Parkinson), la Aterosclerosis se ve integrando la comunidad de las neurodegenerativas (fig. 3B).



**Fig.1 Red de los genes implicados en cada enfermedad.**

Cada nodo representa los genes asociados a EA y DMT2. En el centro se puede observar el grupo de 8 genes en común en color verde.

GEN	UBICACIÓN GENÓMICA		TAMAÑO	ORIENTACIÓN	SECUENCIA DE ADN	TIPO
	CROOSOMA	DESDE/HASTA				
NOS3	 7	150.990.995 pb del promotor/ 151,014,599 pb de pter	23.605 bases	Cadena +	NC_018918.2; NC_000007.14	Codificador de proteínas
APOE	 19	44.905.749 pb del promotor/ 44,909,395 pb del promotor	3.647 bases	cadena +	NC_000019.10, NC_018930.2	Codificador de proteínas
TNF	 6	31,575,567 pb del promotor/ 31,578,336 pb del promotor	2.770 bases	Cadena +	NC_000006.12, NC_018917.2, NT_113891.3, NT_167244.2, NT_167245.2, NT_167246.2, NT_167247.2, NT_167248.2, NT_167249.2	Codificador de proteínas
OGT	 X	71,533,062 pb del promotor / 71,575,897 pb del promotor	42.836 bases	Cadena +	NC_000023.11, NC_018934.2	Codificador de proteínas
IDE	 10	92.451.684 pb del promotor /92,574,095 pb de promotor	122.412 bases	Hebra -	NC_000010.1, NC_018921.2	Codificador de proteínas
AGER	 6	32,180,968 pb del promotor/ 32.184.324 pb de lpromotor	3.357 bases	Hebra -	NC_000006.12, NC_018917.2, NT_113891.3, NT_167244.2, NT_167246.2, NT_167247.2, NT_167249.2	Codificador de proteínas
ACE	 17	63, 477, 061 pb del promotor/63, 498, 380 pb del promotor	21,230 bases	Cadena +	NC_000017.11, NC_018928.2	Codificador de proteínas
LPL	 8	19,901, 717 pb del promotor/ 19,967, 259 pb del promotor	65, 543 bases	Cadena +	NC_000008.11 NC_018919.2	Codificador de proteínas

Tabla 1. Características de los ocho genes asociados a EA y DMT3.

Rank	Factor F	p-value	FDR	FP
1	NMYC_01	0.00	0.00	0.00
2	MYCMAX_03	0.00	0.00	0.00
3	MYCMAX_01	0.00	0.00	0.00
4	EBOX_Q6_01	0.00	0.00	0.00
5	USF_Q6_01	0.00	0.00	0.00
6	CpG_high	0.00	0.00	0.00
7	USF_01	0.00	0.00	0.00
8	HIF1_Q5	0.00	0.00	0.00
9	SP1_Q4_01	0.00	0.00	0.00
10	SP1_Q6	0.00	0.00	0.01
11	WHN_B	0.00	0.01	0.18
12	E2F_Q6_01	0.00	0.01	0.18
13	KROX_Q6	0.00	0.01	0.18
14	HIC1_03	0.00	0.01	0.18
15	AHR_01	0.00	0.03	0.59
16	GABP_B	0.00	0.03	0.59
17	ATF6_01	0.00	0.03	0.59
18	NRF1_Q6	0.00	0.03	0.59

Tabla 2. Resultados de TransFind. Factor F: nombre del factor de transcripción, FDR (tasa de descubrimiento falso), FP (tasa de falsos positivos estimados para p-value)

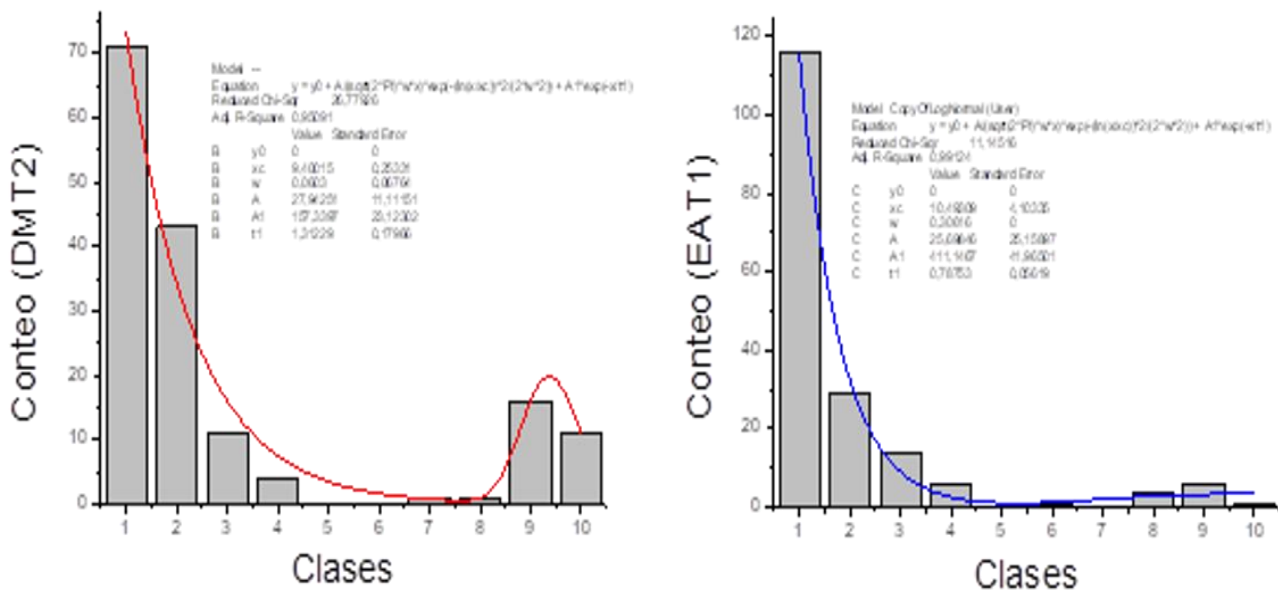
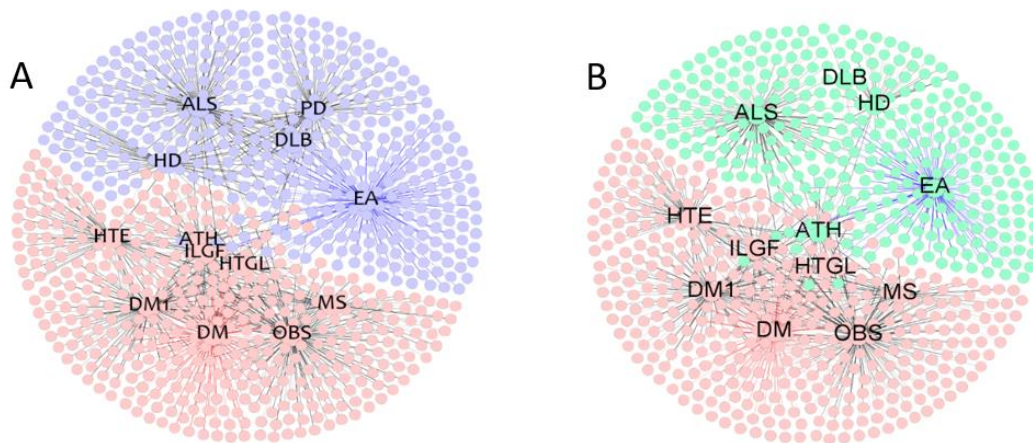


Fig 2. Representación categórica de scores de genes pertenecientes a EAT1 y DMT2.

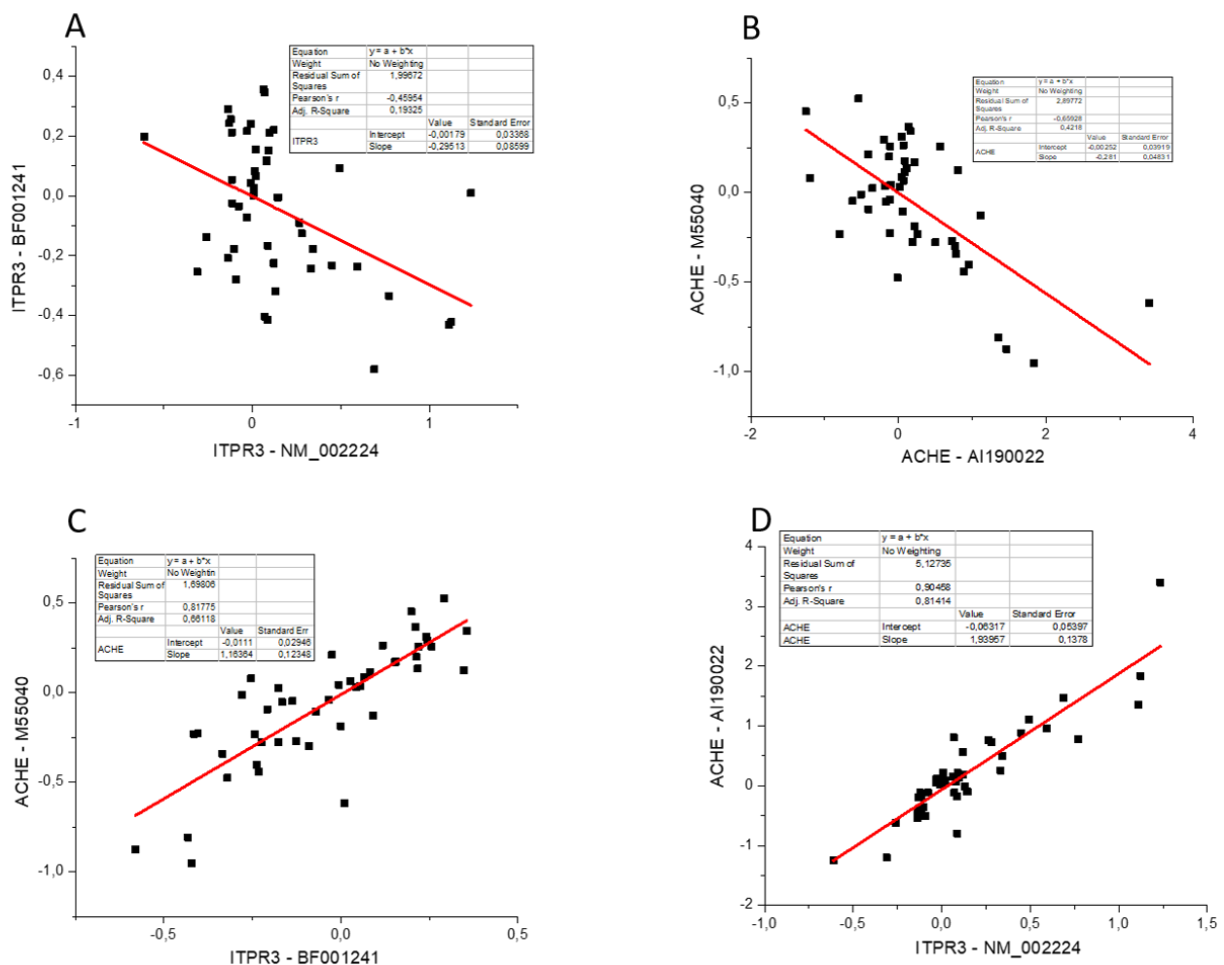
GEN	EA	DMTII
ACE	Intervalo 8	Intervalo 3
AGER	Intervalo 1	Intervalo 1
APOE	Intervalo 4	Intervalo 4
IDE	Intervalo 3	Intervalo 3
LPL	Intervalo 1	Intervalo 1
NOS3	Intervalo 9	Intervalo 1
OGT	Intervalo 1	Intervalo 1
TNF	Intervalo 1	Intervalo 1

**Tabla 3. Distribución categórica de los ocho genes en común en el histograma**





**Figura 3.** A. Red representando las 2 comunidades formadas por las enfermedades metabólicas (rosado) y las neurodegenerativas (azul).  
 B.. Red donde se muestran las 2 comunidades que se obtuvieron quitando los genes de la Enfermedad de Parkinson (PD) donde aterosclerosis(ATH) aparece integrando las enfermedades neurodegenerativas (color verde) y las enfermedades metabólicas (color rosado), representadas por sus siglas ya referenciadas (DM) Diabetes Mellitus Tipo2, (DM1) Diabetes Mellitus Tipo 1 (OBS) Obesidad (MS) Síndrome Metabólico, (HTGL) Hipertrigliceridemia, (ILGF), Factor de Crecimiento Insulinico Tipo1, (ATH) Aterosclerosis (HTE) Hipertensión Esencial, (EA) Enfermedad de Alzheimer (HD), Enfermedad de Huntington (ALS) Esclerosis Lateral Amiotrófica (PD) Enfermedad de Parkinson (DLB) Enfermedad de cuerpos de Lewy.



**Fig. 4** Gráficas de dispersión, genes coregulados/antico<sup>17</sup>regulados. A. Probestets correlacionados de ITPR3. B. Probestets correlacionados de ACHE. C y D. Anticorregulación de diferentes probestets de ACHE e ITPR3.

## Conclusiones y perspectivas

Existen hoy en Malacards® ocho genes compartidos por la EA y DMT2, que podrían vincular ambas enfermedades en un síndrome aún en estudio denominado Diabetes Mellitus tipo 3.

Se ha visto que ambas enfermedades tienen como mecanismo patogénico el estrés oxidativo, daño endotelial, e inflamación, y que se trata de entidades de afectación sistémica

En EA todos los genes estudiados se encuentran relacionados con la producción y/o acumulación de péptido beta-amiloide

En este trabajo pudimos observar que la Aterosclerosis presenta una fuerte vinculación genética a las enfermedades neurodegenerativas.

No se puede establecer que exista sólida asociación entre DMT2 y EA desde el punto de vista genético.

Si bien los genes no se encuentran coregulados por los factores de transcripción principales, si por factores transcripcionales comunes menos fuertes. Se podría estimar el grupo de genes que presentan mayor regulación, pero en este caso no se realizó.

Se encontraron dos genes que anticorrelacionan, ITPR3 (receptor de inositol 1,4,5-trifosfato tipo 3) y ACHE (acetilcolinesterasa). Dicha anticorrelación se basa en que ambos genes presentan una relación lineal negativa, sin embargo, debe comprobarse mediante una investigación posterior más exhaustiva.

## Referencias Bibliográficas

1. Butterfield DA, Di Domenico F, Barone E. Elevated risk of type 2 diabetes for development of Alzheimer disease: A key role for oxidative stress in brain. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis.* 2014;1842(9):1693–706.
2. A. BD, Arvanitakis Z, Wilson RS, Bienias JL, Evans D a, Bennett D a. Diabetes mellitus and risk of Alzheimer disease and decline in cognitive function. *Arch Neurol [Internet].* 2004 May 1 [cited 2017 Oct 14];61(5):661. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15148141>
3. Li J, Cesari M, Liu F, Dong B, Vellas B. Effects of Diabetes Mellitus on Cognitive Decline in Patients with Alzheimer Disease: A Systematic Review. *Can J Diabetes [Internet].* 2017;41(1):114–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcjd.2016.07.003>
4. Janson J, Laedtke T, Parisi JE, O'Brien P, Petersen RC, Butler PC. Increased risk of type 2 diabetes in Alzheimer disease. *Diabetes [Internet].* 2004 Feb 1 [cited 2017 Oct 14];53(2):474–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14747300>
5. Hoyer S. Is Sporadic Alzheimer's Disease the brain type of non-insulin dependent diabetes mellitus? A challenging hypothesis. *J Neural Transm.* 1998;105(4–5):415–22.
6. Steen E, Terry BM, J. Rivera E, Cannon JL, Neely TR, Tavares R, et al. Impaired insulin and insulin-like growth factor expression and signaling mechanisms in Alzheimer's disease – is this type 3 diabetes? *J Alzheimer's Dis [Internet].* 2005 Mar 3 [cited 2017 Oct 14];7(1):63–80. Available from: <http://www.medra.org/servlet/aliasResolver?alias=iospress&doi=10.3233/JAD-2005-7107>
7. Yarchoan M, Arnold SE. Repurposing diabetes drugs for brain insulin resistance in Alzheimer disease. *Diabetes.* 2014;63(7):2253–61.
8. Viceconti M, Kohl P. The virtual physiological human: computer simulation for integrative biomedicine I. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci [Internet].* 2010 Jun 13 [cited 2017 Oct 14];368(1920):2591–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20439263>
9. Mittal K, Mani RJ, Katare DP. Type 3 Diabetes: Cross Talk between Differentially Regulated Proteins of Type 2 Diabetes Mellitus and Alzheimer's Disease. *Sci Rep [Internet].* 2016 Sep 6 [cited 2017 Oct 14];6(1):25589. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27151376>
10. Gentier RJ, van Leeuwen FW. Misframed ubiquitin and impaired protein quality control: an early event in Alzheimer's disease. *Front Mol Neurosci [Internet].* 2015;8(September):1–12. Available from: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fnmol.2015.00047/abstract>
11. Tramutola A, Lanzillotta C, Di Domenico F. Targeting mTOR to reduce Alzheimer-related cognitive decline: from current hits to future therapies. *Expert Rev Neurother.* 2017;17(1):33–45.
12. de la Monte SM. Insulin Resistance and Neurodegeneration: Progress Towards the Development of New Therapeutics for Alzheimer's Disease. *Drugs.* 2017;77(1):47–65.

13. World Health Organisation. ICD-10 Version:2016 [Internet]. Who. 2016 [cited 2017 Oct 13]. p. <http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2>. Available from: <http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2016/en#/Q82.8%5Cnhttp://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2016/en%23>
14. Kepp KP. Ten Challenges of the Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease. *J Alzheimer's Dis.* 2017;55(2):447–57.
15. Dong HK, Gim JA, Yeo SH, Kim HS. Integrated late onset Alzheimer's disease (LOAD) susceptibility genes: Cholesterol metabolism and trafficking perspectives. *Gene.* 2017;597:10–6.
16. Selkoe DJ, Hardy J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Mol Med* [Internet]. 2016;8(6):595–608. Available from: <http://embomolmed.embopress.org/lookup/doi/10.15252/emmm.201606210>
17. Hajji N, Calvert C, Ritchie CW, Sastre M. Mechanisms and Metal Involvement in Neurodegenerative Diseases [Internet]. 2013. Available from: <http://pubs.rsc.org.libezproxy.open.ac.uk/en/content/chapter/bk9781849735889-00080/978-1-84973-588-9>
18. Caberlotto L, Lauria M, Nguyen TP, Scotti M. The central role of AMP-kinase and energy homeostasis impairment in Alzheimer's disease: A multifactor network analysis. *PLoS One.* 2013;8(11).
19. Martinon F, Burns K, Tschopp J. The Inflammasome: A molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL- $\beta$ . *Mol Cell.* 2002;10(2):417–26.
20. Youm YH, Grant RW, McCabe LR, Albarado DC, Nguyen KY, Ravussin A, et al. Canonical Nlrp3 inflammasome links systemic low-grade inflammation to functional decline in aging. *Cell Metab.* 2013;18(4):519–32.
21. Moreno L, 36 A. Epidemiología y Diabetes. *Rev Fac Med UNAM* [Internet]. 2001 [cited 2017 Oct 11];44(1):35–7. Available from: <http://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2001/un011i.pdf>
22. OPS. Guías ALAD. Guías ALAD diagnóstico, Control y Trat la Diabetes Mellit Tipo 2 [Internet]. 2006 [cited 2017 Oct 11];1–80. Available from: [http://www1.paho.org/hq/dmdocuments/2010/Guias\\_ALAD\\_2009.pdf](http://www1.paho.org/hq/dmdocuments/2010/Guias_ALAD_2009.pdf)
23. Wu Y, Ding Y, Tanaka Y, Zhang W. Risk factors contributing to type 2 diabetes and recent advances in the treatment and prevention. *Int J Med Sci* [Internet]. 2014 [cited 2017 Oct 11];11(11):1185–200. Available from: <http://www.medsci.org>
24. American Diabetes Association AD. (2) Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care* [Internet]. 2015 Jan 1 [cited 2017 Oct 11];38 Suppl(Supplement 1):S8–16. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25537714>
25. DeFronzo RA, Ferrannini E, Groop L, Henry RR, Herman WH, Holst JJ, et al. Type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Dis Prim* [Internet]. 2015 Jul 23 [cited 2017 Oct 11];15019. Available from: <http://www.nature.com/articles/nrdp201519>
26. OMS/OPS. OPS/OMS Chile - Diabetes [Internet]. *Diabetes.* 2017 [cited 2017 Oct 11]. Available from:

- [http://www.paho.org/chi/index.php?option=com\\_content&view=article&id=178:diabetes&Itemid=1005](http://www.paho.org/chi/index.php?option=com_content&view=article&id=178:diabetes&Itemid=1005)
27. Mestizo-Gutiérrez SL, Hernández-aguilar ME, Rojas-durán F, Emiliano G, Abreu A. La Enfermedad de Alzheimer y la Diabetes Mellitus. *Rev electrónica Neurobiología* [Internet]. 2014;5(10):14. Available from: <http://www.uv.mx/eneurobiologia/vols/2014/10/10.htm>
  28. Ma D, Alonso E, Ana D, Sosa L, Sotelo J, Ausman J, et al. Visión actual de las demencias. *Arch Neurociencias*. 2016;21(Suplemento Especial):1–8.
  29. Jagua Gualdrón A, Ávila Ávila V. Insulina y Enfermedad de Alzheimer: ¿Una diabetes tipo 3? [Internet]. Vol. 55, *Revista de la Facultad de Medicina*. 2007 [cited 2017 Oct 11]. 66-70 p. Available from: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-00112007000100009](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-00112007000100009)
  30. De La Monte SM. Alzheimer’s Disease Is Type 3 Diabetes—Evidence Reviewed. *J Diabetes Sci Technol J Diabetes Sci Technol J Diabetes Sci Technol* [Internet]. 2008 [cited 2017 Oct 11];22(6):1101–13. Available from: [www.journalofdst.org](http://www.journalofdst.org)
  31. Kroner Z. American College for Advancement in Medicine (ACAM) [Internet]. *altern Med Rev* . 2009 [cited 2017 Oct 11]. p. 373–9. Available from: <http://www.acam.org/blogpost/1092863/185761/The-Relationship-Between-Alzheimer-s-Disease-and-Diabetes-Type-3-Diabetes>
  32. Biessels GJ, Kappelle LJ. Increased risk of Alzheimer’s disease in Type II diabetes: insulin resistance of the brain or insulin-induced amyloid pathology? *Biochem Soc Trans* [Internet]. 2005 [cited 2017 Oct 11];33(5):1041. Available from: <http://www.biochemsoctrans.org/bst/033/bst0331041.htm>
  33. Zhao WQ, Townsend M. Insulin resistance and amyloidogenesis as common molecular foundation for type 2 diabetes and Alzheimer’s disease. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis* [Internet]. 2009 [cited 2017 Oct 11];1792(5):482–96. Available from: [https://ac.els-cdn.com/S0925443908002093/1-s2.0-S0925443908002093-main.pdf?\\_tid=679a6278-aed6-11e7-8f35-00000aab0f6b&acdnat=1507762334\\_067f294b64e5060b094b633f8bf04c1b](https://ac.els-cdn.com/S0925443908002093/1-s2.0-S0925443908002093-main.pdf?_tid=679a6278-aed6-11e7-8f35-00000aab0f6b&acdnat=1507762334_067f294b64e5060b094b633f8bf04c1b)
  34. Moreno-Gonzalez I, Edwards III G, Salvadores N, Shahnawaz M, Diaz-Espinoza R, Soto C. Molecular interaction between type 2 diabetes and Alzheimer’s disease through cross-seeding of protein misfolding. *Mol Psychiatry* [Internet]. 2017 [cited 2017 Oct 11];22(9):1327–34. Available from: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/mp.2016.230>
  35. Barabási A-L, Oltvai ZN. Network biology: understanding the cell’s functional organization. *Nat Rev Genet* [Internet]. 2004;5(2):101–13. Available from: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nrg1272>
  36. Blondel VD, Guillaume J-L, Lambiotte R, Lefebvre E. Fast unfolding of communities in large networks. 2008 Mar 4 [cited 2017 Oct 9]; Available from: <http://arxiv.org/abs/0803.0476>
  37. Lambiotte R, Delvenne J-C, Barahona M. Laplacian Dynamics and Multiscale Modular Structure in Networks. 2008 Dec 9 [cited 2017 Oct 9]; Available from:

- <http://arxiv.org/abs/0812.1770>
38. Science WI of. MalaCards human disease database [Internet]. 2016 [cited 2017 Oct 6]. Available from: <http://www.malacards.org/>
  39. Diabetes Mellitus, Noninsulin-Dependent disease: Malacards - Research Articles, Drugs, Genes, Clinical Trials [Internet]. [cited 2017 Oct 15]. Available from: [http://www.malacards.org/card/diabetes\\_mellitus\\_noninsulin\\_dependent](http://www.malacards.org/card/diabetes_mellitus_noninsulin_dependent)
  40. Alzheimer Disease disease: Malacards - Research Articles, Drugs, Genes, Clinical Trials [Internet]. [cited 2017 Oct 15]. Available from: [http://www.malacards.org/card/alzheimer\\_disease](http://www.malacards.org/card/alzheimer_disease)
  41. Cantor RM, Lange K, Sinsheimer JS. Prioritizing GWAS Results: A Review of Statistical Methods and Recommendations for Their Application. *Am J Hum Genet* [Internet]. 2010;86(1):6–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajhg.2009.11.017>
  42. Molle Raphael. WinVi [Internet]. 2012 [cited 2017 Oct 6]. Available from: <http://www.winvi.de/es/>
  43. Microsoft [Internet]. 2017 [cited 2017 Oct 6]. Available from: <https://news.microsoft.com/facts-about-microsoft/>
  44. Kanehisa M, Furumichi M, Tanabe M, Sato Y, Morishima K. KEGG: new perspectives on genomes, pathways, diseases and drugs. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2017 Jan 4 [cited 2017 Oct 14];45(D1):D353–61. Available from: <https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/gkw1092>
  45. Help IC, Next B. Welcome to [Internet]. [cited 2017 Oct 15]. Available from: <http://transfind.sys-bio.net/>
  46. Reactome Pathway Database [Internet]. [cited 2017 Oct 14]. Available from: <http://reactome.org/>
  47. Belinky F, Nativ N, Stelzer G, Zimmerman S, Iny Stein T, Safran M, et al. PathCards: multi-source consolidation of human biological pathways. *Database* [Internet]. 2015 Feb 27 [cited 2017 Oct 15];2015(0):bav006–bav006. Available from: <https://academic.oup.com/database/article-lookup/doi/10.1093/database/bav006>
  48. Database GeneCards. GeneCards - Human Genes | Gene Database | Gene Search [Internet]. *Genecards.org*. 2017 [cited 2017 Oct 15]. Available from: <http://www.genecards.org/>
  49. bioDBnet - Biological Database Network [Internet]. 2015 [cited 2017 Oct 15]. Available from: <http://biodbnet.abcc.ncifcrf.gov/>
  50. Funahashi A, Morohashi M, Kitano H, Tanimura N. CellDesigner: a process diagram editor for gene-regulatory and biochemical networks. *BIOSILICO* [Internet]. 2003 Nov [cited 2017 Oct 14];1(5):159–62. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1478538203023709>
  51. Team RC. The R Project for Statistical Computing [Internet]. <Http://Www.R-Project.Org/>. 2013 [cited 2017 Oct 6]. p. 1–12. Available from: <https://www.r-project.org/>
  52. (chair) SH, Consortium G, Bastian M, Consortium G, Jacomy M, MediaLab S, et al. GEXF

- File Format [Internet]. 2017 [cited 2017 Oct 9]. Available from: <https://gephi.org/gexf/format/%5Cnhttp://files/1940/format.html>
53. Bastian M, Heymann S, Jacomy M. Gephi: An Open Source Software for Exploring and Manipulating Networks. Third Int AAAI Conf Weblogs Soc Media [Internet]. 2009;361–2. Available from: <http://www.aaai.org/ocs/index.php/ICWSM/09/paper/view/154%5Cnpapers2://publication/uuid/CCEBC82E-0D18-4FFC-91EC-6E4A7F1A1972>
  54. Shannon P, Markiel A, Owen Ozier 2, Baliga NS, Wang JT, Ramage D, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res.* 2003;(13):2498–504.
  55. ArrayExpress & EMBL-EBI [Internet]. [cited 2017 Oct 15]. Available from: <https://www.ebi.ac.uk/arrayexpress/>
  56. E-MTAB-798 & Browse & ArrayExpress & EMBL-EBI [Internet]. [cited 2017 Oct 13]. Available from: <https://www.ebi.ac.uk/arrayexpress/experiments/E-MTAB-798/>
  57. Takashima K, Mizukawa Y, Morishita K, Okuyama M, Kasahara T, Toritsuka N, et al. Effect of the difference in vehicles on gene expression in the rat liver-analysis of the control data in the Toxicogenomics Project Database. *Life Sci.* 2006;78(24):2787–96.
  58. Station F, Genechip TA. GeneChip® Human Genome U133 Plus 2.0 Array. Library (Lond) [Internet]. 2003 [cited 2017 Oct 15];(April 2001):1–2. Available from: [https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/hgu133\\_plus\\_insert.pdf](https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/hgu133_plus_insert.pdf)
  59. Rasmussen M, Karypis G. gCLUTO: An Interactive Clustering, Visualization, and Analysis System [Internet]. *Dep. Comput. Sci. Eng., Univ. Minnesota, Tech. Rep. TR.* 2004 [cited 2017 Oct 15]. p. 04–021. Available from: <http://www-users.cs.umn.edu/~mrasmus/gcluto/doc/gcluto-1.2/report.pdf>
  60. E-MTAB-923 & Browse & ArrayExpress & EMBL-EBI [Internet]. [cited 2017 Oct 15]. Available from: <https://www.ebi.ac.uk/arrayexpress/experiments/E-MTAB-923/>
  61. Csárdi G. igraph: Network Analysis and Visualization. 2017 [cited 2017 Oct 15]; Available from: <https://cran.r-project.org/web/packages/igraph/igraph.pdf>
  62. Behrendt S. Add Standardized Regression Coefficients to lm-Objects [R package lm.beta version 1.5-1]. [cited 2017 Oct 15]; Available from: <https://cran.r-project.org/web/packages/lm.beta/index.html>
  63. SpliceCenter Overview [Internet]. [cited 2017 Oct 15]. Available from: <http://projects.insilico.us/SpliceCenter/SpliceOverview.jsp>
  64. <http://www.originlab.com/>. OriginLab - Origin and OriginPro - Data Analysis and Graphing Software [Internet]. [cited 2017 Oct 15]. Available from: <http://www.originlab.com/>
  65. GeneCards - Human Genes | Gene Database | Gene Search [Internet]. [cited 2017 Oct 14]. Available from: <http://www.genecards.org/>
  66. SABiosciences, a QIAGEN company. The Leader for Pathway and Disease Biology Research Products. [Internet]. [cited 2017 Oct 15]. Available from: <http://www.sabiosciences.com/>

67. Kielbasa SM, Klein H, Roider HG, Vingron M, Blüthgen N. TransFind-predicting transcriptional regulators for gene sets. *Nucleic Acids Res.* 2010;38(SUPPL. 2):275–80.



## Agradecimientos

Esta monografía marca la culminación de un largo camino que comenzamos a recorrer hace varios meses, el cual estuvo lleno de alegrías, crecimiento personal y grupal, de éxitos y también de fracasos.

Primero nos gustaría agradecer a la Facultad de Medicina UDELAR y a sus docentes por habernos formado y abierto las puertas, permitiéndonos adquirir los conocimientos necesarios para poder desempeñar herramientas y habilidades en el área científica de la salud. Finalmente, agradecemos especialmente al tutor de la monografía, Dr. Horacio Botti, su esfuerzo y dedicación. Sus conocimientos, su persistencia, su paciencia y motivación han sido fundamentales para nuestra formación en el área de investigación

## Anexos

### Búsqueda de datos de genes asociados a EA y DMT2

#### NOS3

Codifica la enzima óxido-nítrico sintasa 3 (NOS3) o NOS constitutiva endotelial (eNOS). La eNOS es el principal responsable de la generación de NO en endotelio vascular y provoca vasodilatación regulando el tono vascular prácticamente (2)(3) difunde a través de la membrana plaquetaria, inhibiendo su agregación (antitrombótico). También afecta la adhesión leucocitaria al endotelio, inhibiendo el factor nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B), que induce expresión endotelial de quimioquinas (2). Su inactivación genética exacerba los efectos perjudiciales del envejecimiento sobre endotelio, microglia y funciones neuronales. Es un importante factor de riesgo no modificable para enfermedad cardiovascular (aterosclerosis e HTA), cerebrovascular (EA), desregulación del metabolismo de la proteína precursora beta-amiloide ( $\beta$ A) y propiedades funcionales de la microglia (3)(4)

La inflamación, infección, isquemia, citotoxicidad o neurodegeneración aumentan la expresión de varias isoformas de NOS que acrecientan la síntesis de NO, provocando cambios biológicos celulares. Así es como el peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>) es formado por una reacción de NO en la sinapsis y en condiciones patológicas (hiperglicemia, inflamación, aterosclerosis, etc), generado en estas condiciones oxida varias moléculas biológicas, incluido el ADN, también disocia los dímeros de eNOS, inhibiendo irreversiblemente la respiración mitocondrial, provocando daño celular (2,(5). La hiperglucemia inhibe la actividad de la eNOS, y con la disminución de los niveles de NO, la vasodilatación depende del endotelio, llevando al deterioro micro y macrovascular. El endotelio, por sobreproducción de Oxígeno Mitocondrial, activa al factor NF-Kb que controla la transcripción de ADN, además aumenta la modificación de la N-acetilglucosamina ligada a oligonucleótidos (GlcNAc) y disminuye por afectación transcripcional a las proteínas (serina 1177) involucradas en la activación de eNOS. Esto predispone al desarrollo de enfermedad vascular, asociado frecuentemente a enfermedad coronaria, ACV y enfermedad arterial de miembros inferiores, por esto se considera un factor de riesgo independiente para enfermedad macrovascular diabética. Además, el NO controla la expresión de proteínas implicadas en la aterogénesis, disminuye la expresión de la proteína quimiotáctica MCP-1 y moléculas de adhesión, CD11/CD8, P-selectina, VCAM-1 e ICAM, y la permeabilidad vascular a la vez que aumenta la tasa de oxidación de LDL a la forma pro-aterogénica e inhibe la proliferación de musculo liso vascular. (5) A nivel del SNC el NO funciona como neurotransmisor difusible y como molécula de señalización intra y extracelular. (5)

En cuanto a su relación con EA, una de las hipótesis que sustentan su etiopatogenia es la amiloide y otra es la hipótesis vascular que propone que las responsables del desarrollo de esta patología son la lesión vascular y posterior aberración de la función cerebrovascular afectando las funciones fagocíticas y la microglia, aunque también se cree que ambos mecanismos pueden coexistir (1)

Dado que las placas amiloides pueden generar daño endotelial y efectos negativos en la función del NO endotelial aumentando su catabolismo por inhibición de la actividad enzimática de la NOS aumentándola producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) (1,(6).

Se han realizado estudios (1,6) que sugieren que la inhibición de la actividad de eNOS promueve el procesamiento amiloidogénico del gen APP con liberación de péptidos citotóxicos A $\beta$ , estando involucrada la señalización de GMPc en la inhibición, sin incluir las enzimas que clivan la proteína beta- amiloide precursora, ni otras involucradas en su degradación. (1,6) puede existir una regulación positiva de genes amiloidogénicos como respuesta adaptativa al estrés inducido por la pérdida de NO.

En modelos experimentales APP se encuentra como una proteína protectora inducida por estrés, sin mecanismos claros. Contrariamente a la misma proteína humana sobreexpresada experimentalmente que exacerba la lesión vascular en los tejidos (1).

Si se producen fugas de calcio en el RE la inositol 1, 4, 5-trifosfato activa proteínas calcio dependientes que afectan el patrón de fosforilación de eNOS. (6)

## **APOE**

Codifica una proteína perteneciente a la familia de apoproteínas, APOE, principal componente de las apoproteínas en los quilomicrones. La apoE es sintetizada principalmente en el hígado, aunque también en otros tejidos, como cerebro, riñón y bazo (7)

La apoE tiene afinidad por un receptor específico que se encuentra en los hepatocitos y otras células del organismo, desempeñando un papel importante en el metabolismo de lípidos y lipoproteínas participando como ligando de alta afinidad para receptores de LDL, facilitando así la internalización de lípidos en células hepáticas y extrahepáticas. Además tiene propiedades de señalización y activa proteínas activadas por mitógenos (MAP). En adipocitos es indispensable la adipogénesis. (7,(8),(9)

Es altamente expresada en el cerebro, las células gliales, mayormente astrocitos y microglía. También predominantemente en cerebro, se expresan varias MAP quinasas, como la MAP quinasa DLK (“doble cremallea de leucina quinasa”) activada por APOE e implicada en degradación y regeneración neuronal. (7)

La APOE ejerce efectos antiinflamatorios y antioxidantes. Las isoformas APOE confieren diferentes susceptibilidades a la enfermedad, APOE2 está asociado con disbetalipoproteinemia (hiperlipoproteinemia tipo III) caracterizada por una elevación considerable de la concentración de colesterol y triglicéridos en sangre, debida a la incapacidad de eliminar adecuadamente a los quilomicrones, VLDL y remanentes de la LDL, asociándose también a diferentes riesgos de aterosclerosis. El aumento de los niveles de triglicéridos (TG), colesterol total (TC) y colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL-c), como la disminución de los niveles de colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL-c) son factores de riesgo de DM2 y trastornos neurodegenerativos, tales como EA (7, 8).

Se considera promotor de aterosclerosis prematura, atribuida generalmente a mayores concentraciones plasmáticas de triglicéridos y colesterol LDL, aumentando también el riesgo y disminuyendo la edad de inicio de EA de inicio tardío de manera dosis-dependiente, 40-65% de los pacientes con Alzheimer tienen al menos una copia del alelo 4. El riesgo para EA depende de los diferentes genotipos de APOE, APOE 4,4 es el de mayor riesgo, mientras el genotipo ApoE 3,4 también posee mayor riesgo pero menor al de los homocigotos para la ApoE 4. El genotipo ApoE 3,3 se considera como un riesgo normal o similar al resto de la población, al igual que ApoE 2,4, ApoE 2,3 se considera protector, presentando menor riesgo de contraer Alzheimer. (2, 7, 8) La APOE ε4 está involucrado tanto en la iniciación como la progresión de la enfermedad. La asociación APOE4/EA estaría dado tanto por mecanismos dependientes como independientes de Aβ. (10)(11)

El genotipo APOE influye en la mitocondria y retículo endoplásmico (ER). (7)

Otra función celular que interviene en la patología de la EA es el procesamiento lisosomal mediante la regulación de proteínas. En la EA se acumulan en el cerebro endosomas y vacuolas autofágicas. Los endosomas pueden ser un sitio de degradación de Aβ. El proceso de autofagia alterado reduce significativamente al Aβ extracelular, acumulándose en el medio intracelular. En el lisosoma el Aβ puede sufrir degradación, mediante la enzima de conversión de endotelina y la catepsina B; la pérdida de estas proteasas implica desarrollo de neurodegeneración (12)

La APOE desempeña un papel importante en cerebro, funcionando como molécula de transporte y/o señalización de lípidos, manteniendo la homeóstasis del colesterol y triglicéridos, y participando en el metabolismo de la glucosa, sustrato cerebral primario para el sistema de fosforilación oxidativa (8,9).

Una característica del proceso de envejecimiento es la inducción de una inflamación crónica de bajo grado. En el estrés oxidativo y la disfunción mitocondrial, se liberan sustancias que

promueven la inflamación, empeorando el estrés de RE y la disfunción mitocondrial. APOE4 parece ser menos efectiva en la regulación negativa de la activación de microglía y macrófagos periféricos y supresión de la liberación de citoquinas proinflamatorias y otros mediadores inflamatorios, favoreciendo la vía proinflamatoria. Las principales vías de transducción de señalización implicadas en la dirección de las respuestas inflamatorias específicas de la isoforma de APOE incluyen: NF- $\kappa$ B y MAPK (p38 MAPK y JNK) de la proteína quinasa activada por mitógeno. APOE4 también puede afectar a la respuesta inflamatoria a través de la supresión de las vías antiinflamatorias, estando incrementada la activación de NF- $\kappa$ B y la subsiguiente vía de prostaglandina E2 (PGE2) en la microglía primaria. (7)

En la DMT2 existe disfuncionalidad de la homeostasis redox, existiendo niveles celulares aumentados de ROS que inducen daño del ADN, la hiperglucemia altera el ciclo de Krebs, se produce inhibición de la transferencia de electrones dentro de la membrana mitocondrial y acumulación de ROS, particularmente  $O_2^-$  altamente reactivo y compuestos hidroxilo. Cuando la producción de ROS sobrepasa la capacidad antioxidante endógena de neutralización, se produce estrés oxidativo, daño celular y la apoptosis. Esto lleva a la iniciación y progresión de DMT2, agotamiento de moléculas antioxidantes naturales, daño de células vasculares, alteraciones en la expresión de genes y proteínas, flujo sanguíneo y permeabilidad de las células endoteliales (13)

La regulación de la homeostasis redox celular tiene como mediador principal la vía de señalización Nrf2 / Keap1 / ARE, que regula la expresión de una variedad de genes y funciones relacionadas con el estrés oxidativo y supervivencia celular. La disfunción de esta vía se asocia con la fisiopatología de la diabetes y sus complicaciones, como nefropatía diabética. A su vez el estrés oxidativo es un importante mecanismo de disfunción de las células  $\beta$  pancreáticas resultando en la alteración de la sensibilidad a la insulina. La deficiencia de Nrf2 también se ha asociado con la disminución de la glucosa en sangre, aumento de la señalización de insulina, y disminución de grasa y peso corporal. Esta vía puede desempeñar un papel dinámico en otras células de los islotes pancreáticos (células  $\alpha$ ,  $\delta$  y PP), posiblemente mediante la prevención de la diferenciación de células  $\beta$  en estos tipos de células insulino-negativas en condiciones de estrés oxidativo (13)

## **TNF**

El gen TNF humano (TNFA) codifica el factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ), miembro de la subfamilia de ligandos TNF, proteína de señalización celular (citoquina) implicada en la inflamación sistémica y en la reacción de fase aguda, actuando como proinflamatoria (14)(15). TNF se une a dos moléculas transmembranas, receptor TNF1 (TNFR1) y receptor TNF2 (TNFR2) que son receptores de glicoproteínas de membrana que se unen específicamente a TNF y

homodímeros de TNF $\beta$ , pero los dos receptores difieren en sus perfiles de expresión, afinidad de ligandos, estructura de cola citoplásmica y señalización de la vía de activación. (14, 15, (16)

TNF se presenta principalmente en células inmunes, monocitos y macrófagos activados (incluyendo microglia del SNC), células linfoides (CD4+ y NK), neutrófilos, mastocitos, eosinófilos, pero también en una diversidad de células no inmunes como células endoteliales, miocitos cardíacos, tejido adiposo, fibroblastos y neuronas. Se liberan grandes cantidades en respuesta a productos bacterianos, e Interleucina-1 (IL-1 (14, 15)

También induce resistencia a la insulina al promover la fosforilación de la serina del sustrato 1 del receptor de insulina (IRS-1), en otros tejidos aumenta de la resistencia a la insulina mediante fosforilación de residuos de serina del receptor de insulina. (15)

TNF $\beta$  muestra unión preferencial por TNFR2, éste se encuentra a nivel endotelial y algunas poblaciones neuronales y muestra una acción biológica menor que la de TNFR1. La activación de TNFR2 inicia vías señalización de proinflamación y prosupervivencia, también activa la fosfatidilinositol 3-quinasa dependiente para promover la supervivencia de las neuronas. A su vez TNFR2 puede promover la señalización TNFR1 mediante la mejora de la asociación entre TNFs y TNFR1. TNFR2 no contiene un DD, y por lo tanto, no conduce directamente a la activación de caspasas. (15)

Los niveles elevados de TNF aumentan en un gran número de trastornos neurológicos, como isquemia, lesión cerebral traumática, esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer y enfermedad de Parkinson, pero no está claro si la su señalización contribuye o limita la lesión neuronal en estos trastornos. (16)

El envejecimiento se asocia con un aumento en la activación de microglia y una disminución del estatus regulatorio, se van comprometiendo progresivamente las funciones de monitoreo activo de microglia debido al inicio de la senescencia celular que impide la capacidad de la célula para detectar los cambios en su entorno, perdiendo su funcionamiento normal. La pérdida de la capacidad fagocítica llevaría a la acumulación de proteínas aberrantes como A $\beta$ ,  $\alpha$  sinucleína, apolipoproteína E (ApoE), que se sabe que están asociados con neurodegenerativas enfermedades. La senescencia, o cualquier mecanismo que disminuya la función de la microglia, teniendo impacto en la plasticidad sináptica, función cognitiva, regulación de la inflamación, reparación y remodelación celular. Todos estos cambios van generando un ambiente que facilita el estrés oxidativo, siendo neurotóxico para las neuronas y células gliales. (16, (17)

La señal de insulina de los adipocitos es afectada por TNF $\alpha$ , debido principalmente a cambios en la transcripción de las moléculas de señalización de la insulina, en particular el receptor de

insulina, IRS-1 y Glut4. La resistencia a la insulina aumenta los niveles de TNF $\alpha$ , pudiendo éste regular la resistencia a la insulina.

Marcadores inflamatorios circulantes que se asocian fuertemente con DM2 y son factores de riesgo para el desarrollo futuro de DM2. La obesidad activa la inflamación a través de la vía IKK $\beta$  / NF $\kappa$ B y que la inhibición de esta vía por delección genética de IKK $\beta$  o inhibidores farmacológicos de esta vía mejora la insulina inducida por la obesidad resistencia. La obesidad aumenta el número de macrófagos en el TA (MTA) y estos producen la mayoría de las citoquinas en respuesta a la obesidad. El TA infiltrado por macrófagos desempeña un papel clave en la regulación de la obesidad inducida por la inflamación. Posteriormente, muchos otros tipos de células inmunes se encontraron en TA. Entonces se puede decir que células inmunes residentes en los tejidos desempeñan un papel importante en la regulación de la inflamación inducida por la obesidad y la resistencia a la insulina, como lo hace la inflamación de la inmunidad clásica. El TA es el sitio principal de almacenamiento lipídico y modulación de las vías lipídicas implicadas en la homeostasis sistémica, puede regular indirectamente la homeostasis de la glucosa. El TA en la obesidad también actúa como un órgano endocrino regulando la producción de varias hormonas y citoquinas (leptina, adiponectina, resistina y citoquinas tales como TNF- $\alpha$  e IL-6) (15).

En la inflamación crónica inducida por la obesidad, existe un aumento de los TA macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, células T CD4 Th2, CD8 T y CD4 Treg y células NK, las que producen diversas citoquinas y quimioquinas (15).

Al nivel celular, la resistencia a la insulina inducida por la obesidad es causada por el deterioro de la vía de señalización de la insulina en células que responden a la insulina (adipocitos, hepatocitos, miocitos y células  $\beta$ ), mientras que en la inflamación inducida por la obesidad ocurre principalmente en las células inmunes infiltrantes en tejidos. Por lo tanto, las células inmunes en la obesidad deben producir mediadores para producir la resistencia a la insulina en células que responden a la insulina. Las citoquinas que son producidas por las células inflamadas-inmunes de la obesidad son los mediadores propuestos para esta respuesta, las vías IKK $\beta$  / NF  $\kappa$ B, JNK y inflamósoma pueden promover la producción de citoquinas pro- y antiinflamatorias. El TNF  $\alpha$  es una citoquina proinflamatoria, además induce la fosforilación inhibitoria de los IRS, bloqueando así la señalización de insulina, IL-6 es un factor de riesgo para el desarrollo de DM2 en humanos y la IL-10 es una citoquina anti-inflamatoria clásica (18).

## **OGT**

El gen OGT codifica para la enzima N-acetilglucosamina (O-GlcNAc) transferasa ligada a O, que cataliza la adición de una única N-acetilglucosamina en enlace O-glicosídico a residuos de serina

o treonina de proteínas intracelulares (19). Es regulado mediante variantes de empalme, expresión específica de organelos, interacción del sustrato, sus propias modificaciones postraduccionales, modificaciones postraduccionales de los sustratos y el flujo de nutrientes (20).

La O-GlcNAcylation es el único tipo de glicosilación que se produce en el núcleo y el citosol y es catalizada por la O-GlcNAc transferasa (Ogt), usando difosfato de uridina (UDP) -GlcNAc como donante del resto GlcNAc (20).

Existen tres isoformas de OGT: 1) OGT nucleocitoplasmática (ncOGT), es la más larga, contiene 13 repeticiones tetratricopeptídicas completas (TPR), está localizada en núcleo y citoplasma, vinculada a represión transcripcional, inhibición proteasomal y tolerancia al estrés. 2) OGT mitocondrial (mOGT) generada en un sitio de inicio único en el cuarto intrón, se cree que es proapoptótico, 3) OGT corta (sOGT) deriva de una transcripción más larga, está localizada en núcleo y citoplasma, es antiapoptótica. (20, (21)

La OGT y OGA está altamente expresada en el páncreas y cerebro pero también se expresa en corazón, cerebro, músculo esquelético, placenta, pulmón e hígado. (19, 20)

La O-GlcNAc está ligada a miles de proteínas que están implicadas en diversos procesos celulares distintos como: transducción de señales, diferenciación celular, respuesta al estrés y regulación de la transcripción.

O-GlcNAc es un regulador clave de la expresión génica a través de su influencia en la estructura de la cromatina de orden superior, la transcripción y la modulación de ARN polimerasa II. Modifica las cuatro proteínas histonas centrales vinculadas a la transcripción de genes.

OGT promueve modificaciones incluyendo fosforilación y ubiquitinación, activando o inhibiendo la transcripción. También modula la estabilidad del activador transcripcional  $\beta$ -catenina de una manera dependiente de nutrientes, actuando potencialmente como el enlace entre el metabolismo de la glucosa con el desarrollo de cánceres (20).

Mediante la modificación de HIF-1 $\alpha$  (factor 1 inducible por hipoxia) y su objetivo transcripcional GLUT1, O-GlcNAc regula la glicólisis en células cancerosas y activa el estrés RE. También se ha vinculado a la regulación de la degradación de proteínas lisosómicas (autofagia) de una manera dependiente de nutrientes. La modificación de O-GlcNAc de la proteína SNARE SNAP-29 se correlaciona con la inhibición de la fusión de autofosomas-lisosoma (22).

La función OGA es fundamental en la embriogénesis y su alteración genética conduce a la letalidad neonatal con retraso del desarrollo (22). La arginina metiltransferasa 1 asociada a coactivador (CARM1) está regulada por O-GlcNAcylation. CARM1 cataliza la metilación de la



histona H3 en R2, R17 y R36. En la diabetes, CARM1 activa la expresión de genes clave implicados en la gluconeogénesis y el metabolismo del glucógeno (22) OGA posee una acción antagónica a OGT importante para la regulación y el mantenimiento de la estabilidad genómica (22). La fosforilación de OGT participa en la resistencia de la insulina en las células musculares y los adipocitos mediante la inhibición de la fosforilación de AKT1, aumentando la tasa de fosforilación del IRS1, reduciendo la señalización de la insulina y los componentes glicosilantes de las señales de insulina. Fisiológicamente los lípidos circulantes suministran ácidos grasos a la mayoría de los tejidos, siendo una forma de almacenamiento de energía además de formar parte de las membranas celulares y participar en la transducción de señales y la señalización celular.

De acuerdo con el papel de esta modificación postraducciona l de la O-GlcNAc ha estado genéticamente vinculado a diversas enfermedades humanas como al lupus eritematoso sistémico, autismo y distonía de Parkinson ligada al cromosoma X, EA , DMT2 y cáncer. El metabolismo de la glucosa cerebral está alterado en la enfermedad de Alzheimer. La progresión de la EA se controla a nivel molecular por hiperfosforilación de tau. Tau es O-GlcNAc modificado en Thr123, Ser208, Ser333, Ser400 y Ser692, siendo Ser400 el sitio funcional primario. Los niveles de O-GlcNAc en el cerebro durante la progresión de Alzheimer parecen disminuir a medida que aumenta la hiperfosforilación, coincidiendo con la disminución del metabolismo de la glucosa observada en el envejecimiento del cerebro (22).

La APP, precursor de A $\beta$ , es modificada por O – GlcNAc. La  $\gamma$ -secretasa activa es un complejo que contiene cuatro subunidades proteicas, incluyendo la nicastrina (NCT) requerida para el reconocimiento y unión del sustrato. La NCT está modificada por O-GlcNAc en Ser708 y esta adición de PTM atenúa la actividad de  $\gamma$ -secretasa y evita la escisión de APP. La principal vía de procesamiento proteolítico para APP utiliza  $\alpha$ - y  $\gamma$ -secretasa para producir A $\alpha$  secretado y previene la agregación de la placa A $\beta$ . Elevaciones en los niveles de O-GlcNAc, aumentan la cantidad de A $\alpha$  y previenen la carga de A $\beta$  (22).

La ubiquitina es una modificación de la proteína postraducciona l que se sabe que se acumula en las placas A $\beta$  y NFT en Alzheimer. Este PTM es crucial en la regulación del recambio de proteínas a través del proteasoma y se propone que es disfuncional en enfermedades neurodegenerativas. Una extensa investigación ha establecido conexiones funcionales entre O-GlcNAc, ubiquitination y el proteasoma. Se ha identificado un sitio O-GlcNAc en el ADRM1 / ARM1. Esta proteína recluta la enzima de desunión UCH37 al proteasoma y sirve como receptor de ubiquitina. Combinado con el papel aparentemente neuroprotector O-GlcNAcylation juega en el cerebro, O-GlcNAc modificación de RPN13 puede disminuir el estado de ubiquitinación de A $\beta$  y NFT y disminuir el fenotipo de la enfermedad de Alzheimer. Sin embargo, se necesita más investigación

en esta área, ya que aún no se ha establecido una conexión funcional directa. O-GlcNAc tiene efectos de neuroprotección en el envejecimiento del cerebro y su declive exacerba la progresión de Alzheimer (22).

## **IDE**

El gen IDE se encuentra ubicado en el cromosoma 10, codifica la enzima degradante de insulina (IDE), una proteasa de zinc de la subfamilia de metaloproteasa M16A (23) altamente conservada, dependiente de tiol (24) capaz de escindir múltiples polipéptidos cortos de secuencias variables (23) como insulina, glucagón, A $\beta$ , somatostatina, péptido natriurético, calcitonina y factores de crecimiento similares a la insulina I y II, factor de crecimiento transformante  $\alpha$ , también convierte  $\beta$ -endorfina en  $\gamma$ -endormina (24, (25). Esta metaloproteasa es definida por una secuencia canónica "invertida" en el sitio activo (H XX EH en lugar de HE XX H), en comparación con otros miembros de la familia (26) y tiene preferencia por restos hidrofóbicos básicos (Arg, Lis) o voluminosos (fenilalanina, leucina, tirosina) (22). Mediante empalme alternativo, la IDE tiene dos isoformas (25) Presenta unidades N- terminal y C-terminal definidas que forman una cámara proteolítica que contiene el sitio activo de unión al zinc (25). Parecen existir en dos conformaciones: una conformación abierta, de mayor actividad catalítica dado el acceso del sustrato al sitio activo, y un estado cerrado (25)

Se distribuye particularmente abundante en cerebro, hígado y músculos (25). En estos tejidos se localiza principalmente en el citosol y pequeñas cantidades pero significativas en membranas plasmáticas, peroxisomas, endosomas y mitocondrias (24, 23). Puede existir una forma soluble o que la presencia en el medio extracelular se deba a liberación por daño celular o fugas celulares por la permeabilidad celular (23). Luego de la unión de la insulina a su receptor en la membrana plasmática, se internaliza en la célula, donde es liberada de los endosomas en el citosol y sigue su camino al núcleo. IDE se encuentra principalmente activa en el citosol, por lo tanto, parece participar en la regulación de la translocación de la insulina en el núcleo. (25)

IDE se ha relacionado a procesos celulares como señalización del receptor de esteroides y modulación del proteasoma dependiente de la insulina (25). Su regulación positiva ante la exposición al estrés se basaría en la modulación de la vía ubiquitina-proteasoma y por lo tanto en la respuesta de choque térmico (HSR) (25), actuando sobre la homeostasis de ubiquitina y / o directamente sobre la actividad enzimática del proteasoma (25).

Otra función de la IDE es la regulación de la abundancia y señalización de glucagón y amilina, además de la de insulina. Las condiciones fisiológicas que aumentan los niveles de insulina y amilina, como la administración oral de glucosa, provocan inhibición aguda de IDE conduciendo

a una tolerancia a la glucosa sustancialmente mejorada ya un vaciado gástrico más lento (23) El dominio extracelular del IDE interactúa con la glicoproteína E (gE) del virus varicela-zoster (VZV), causante de la varicela y herpes zoster, una proteína esencial para la infección viral, siendo IDE un receptor celular tanto para VZV (23). Mediante la degradación de insulina dependiente de tiol y zinc, la IDE obstaculiza la participación de la hormona en procesos nucleares como el crecimiento celular y la expresión génica, teniendo también un papel regulador sobre la progresión tumoral y metástasis (25), además de su vinculación de la IDE con enfermedades relacionadas con el envejecimiento como DMT2 y EA tardía (23). La hipofunción IDE puede subyacer o contribuir a la EA y DMT2 y proporcionar un mecanismo para la asociación reconocida entre hiperinsulinemia, DM y EA (27) Identificándose haplotipos de IDE y se han asociado SNPs individuales a riesgo aumentado o disminuido de desarrollar estas enfermedades (23).

El nivel de A $\beta$  cerebral está determinado por el equilibrio entre su producción mediante,  $\beta$ - y  $\gamma$ -secretasas a partir de la escisión de APP, y su eliminación ( a través de la sangre y barreras de LCR) así como la degradación enzimática de A $\beta$  (principalmente neprilisina-NEP, IDE y enzima de conversión de endotelina- ECE-1) (23, 25). Normalmente el A $\beta$  se elimina rápidamente del cerebro tras su síntesis (25), las deficiencias en la eliminación o degradación enzimáticas llevan a su acumulación y agregación, conduciendo a la demencia y EA (25).

El desequilibrio entre la biosíntesis y eliminación produce la acumulación del A $\beta$  en la EA. La NEP metaloproteasa de zinc transmembrana, parece ser la proteasa A $\beta$  dominante, capaz de degradar formas monoméricas y oligoméricas de A $\beta$ ; ECE e IDE probablemente participan en la regulación de la NEP, actuando ECE e IDE como defensa de segunda línea (23). IDE es la principal enzima degradante de A $\beta$  soluble a pH neutro (28), no solo implicada en la degradación del A $\beta$  extracelular, sino que también tiene la capacidad de eliminar los productos citoplasmáticos de APP (23). La sobreexpresión de IDE atenúa la formación de placa cerebral, la patología secundaria y previene la muerte prematura. En la EA como en el envejecimiento, existe una disminución de los ARNm neuronal, expresión como de la actividad catalítica de IDE en el hipocampo (23, 28), en la EA la actividad reducida puede ser explicada por menores niveles de ARNm de IDE o modificaciones post-traduccionales tales como daño oxidativo (29) Otro conjunto de metaloendopeptidasas de zinc integral de membrana son las ECE, localizadas principalmente en células endoteliales, pero también detectadas en neuronas y glías (23). Existen dos isoformas ECE-1 y ECE-2, con 59% de homología de secuencia y actividad catalítica similar; ECE-1 predomina en cerebro, identificada como nueva enzima degradante de A $\beta$  (23). Esto se demostró mediante observación experimental de que la deficiencia de ECE-1 aumenta los niveles

de A $\beta$  cerebral, mientras que su sobreexpresión disminuye la acumulación de A $\beta$  en la corteza y el hipocampo (23). Han sido identificadas tres variantes genéticas de IDE (rs6583817, rs5786996; rs4646953) que tendrían asociación con la expresión de niveles aumentados de IDE y disminución de los de A $\beta$ . Documentándose un vínculo entre el aumento de insulina cerebral y mejoras en las funciones ejecutivas cognitivas (29). IDE se asociaría junto con otras variantes genéticas, con salud vascular y por consiguiente al deterioro cognitivo del envejecimiento. La variante de IDE (rs6583817) mayor (G) proporcionaría una protección frente a la disminución de las funciones efectoras asociadas con el envejecimiento. (26) El riesgo de DT2 pueden deberse a la disminución de la expresión de IDE, que puede resultar en hiperinsulinemia y consecuentes déficits cognitivos. Alternativamente, los SNPs IDE asociados con un menor riesgo de AD pueden deberse a una mayor expresión de IDE y a disminuciones en el nivel de A $\beta$ . (28)

La relación entre IDE y EA se ha asociado también con la isoforma de APOE, siendo los niveles de IDE menores en pacientes con EA portadores de APOE4, sugiriendo una interacción entre IDE y APOE4 en la afectación del metabolismo de A $\beta$  (29). Mientras que la EA familiar de inicio precoz se asocia con una mayor generación de A $\beta$ , en la EA de inicio tardío puede estar implicado el aclaramiento defectuoso de A $\beta$ . La IDE cataboliza tanto el A $\beta$  como el dominio intracelular APP (AICD) (29). IDE tiene una afinidad preferente por la insulina, por lo que la presencia de insulina inhibirá la degradación de otros sustratos medida por IDE, entre ellos el A $\beta$ . (25) Pacientes con EA de inicio tardío presentan hiperinsulinemia y anomalías del metabolismo de la insulina asociadas con la apolipoproteína E (APOE) (29) Existiendo una reducción de la expresión cerebral de IDE en pacientes con EA de inicio tardío, siendo ésta reducción característica de los pacientes con el alelo APOE- $\epsilon$ 4, además también es característica también la hiperglucemia, (26) A nivel cerebral A  $\beta$  induce la secreción extracelular de IDE funcional de astrocitos. Una secreción de IDE inducida por  $\beta$  está asociada con una vía secretora no convencional basada en autofagia (26), una vía de degradación celular inducida por la inhibición de la vía de señalización de MTOR, que representa un proceso biológico fundamental con impacto en procesos como el envejecimiento, cáncer, enfermedades neurodegenerativas, inmunidad y trastornos metabólicos. (26) La autofagia también tiene un papel en los procesos no autofágicos, especialmente en la vía secretora (autosecreción), regulando la secreción no convencional de varias proteínas citosólicas como IL-1B (interleuquina 1, beta), IL18, HMGB1 (grupo de alta movilidad en el cuadro 1) y VWF (factor de von Willebrand), así como ATP (26). Pacientes con EA, la autofagia sería inhibida debido a un defecto lisosomal, el cual resultaría en acumulación de vacuolas autofágicas patológicas a nivel cerebral, debida a la disfunción en la degradación autofagica-lisosómica. El A $\beta$  podría degradarse induciendo secreción de IDE desde los astrocitos a través de una vía secretora basada en autofagia en condiciones AD (26)

La vía de resistencia a la insulina cerebral modifica el rendimiento cognitivo y demostrándose las influencias en ausencia de diabetes (26) El IDE representa un gen potencial de susceptibilidad a EA, varios estudios independientes han demostrado que la variante rs1887922 exhibe interacciones con medidas cuantitativas relacionadas con AD, incluyendo cargas de placas A $\beta$  y densidades de enredos neurofibrilares (26). Se ha sugerido que las regiones del cerebro que regulan la ejecución son objetivos de IDE, como la corteza prefrontal (PFC). La IGF1R, rs2229765 locus probable candidato debido a su asociación con los niveles plasmáticos de IGF-1, (26) relacionados con el riesgo de demencia vascular, la variación rs1815009 de IGF1R puede tener un papel en la determinación de la gravedad de AD, aportando mayor apoyo a las funciones de IGF1R en el desarrollo (26). En EA se ha demostrado la alta fosforilación de IRS-1 suprimiendo su actividad de transmitir señales (26), este proceso de fosforilación está regulado principalmente por la inhibición de la retroalimentación principalmente por AKT, MTOR, GSK-3 y PKC y la inhibición anticipada por JNK e IKK, pudiéndose predecir la capacidad de memoria mediante niveles de expresión de estas moléculas (26). Se detectaron relaciones positivas con los niveles periféricos de IGF-1 y volumen cerebral total, además variaciones genéticas relacionadas con la resistencia a la insulina determinan atrofia cerebral en el tiempo, incluyendo HK2, PIK3R3, PIK3CG, ACACA y G6PC (26). La resistencia a la insulina cerebral influye en la función cerebral (26) asociándose con un mejor reclutamiento funcional del cerebro frontal-parietal para compensar las pérdidas neurales de otras regiones, en la evolución de la enfermedad, las capacidades para proporcionar una compensación efectiva disminuiría, mostrándose graves déficit cognitivos (26). Las alteraciones neurobiológicas relacionadas con la resistencia a la insulina cerebral modifican el progreso de la EA al influir en la eficiencia global de las redes funcionales cerebrales (26).

IDE, se han encontrado en estrecha asociación con o dentro de las placas amiloides en cerebros EA. (26) El monómero A $\beta$  interactúa con parte del sitio de unión al sustrato del IDE para producir, a través de un reordenamiento lento, el complejo peptídico-proteasa irreversible. (26) IDE, además de su función como insulina peptidasa, puede actuar en intracelular como extracelularmente como un captador de péptidos con una alta propensión a formar agregados  $\beta$  degradándolos en una etapa monomérica. (26) Se especula que una unión no catalítica irreversible puede ser una alternativa para atrapar péptidos metaestables antes de que alcancen una concentración crítica que promueva la nucleación, resultando menos accesibles a la proteólisis. Este tipo de interacción puede ser una propiedad general del IDE y puede adquirir importancia patogénica en el contexto de la especificidad tisular de la acumulación amiloide. (26) En el caso del cerebro en la EA, un complejo estequiométrico irreversible que implica A $\beta$  y una conformación "suicida" de IDE que entra en una vía sin salida puede comprometer el recambio

de insulina y promover la resistencia a la insulina local en condiciones en las que A $\beta$  se produce a una velocidad elevada tal como durante el estrés hipóxico celular. Además, la sensibilidad del IDE al daño oxidativo puede reducir su actividad catalítica y promover aún más la formación de complejos IDE · A $\beta$ . IDE es altamente sensible a A $\beta$  sobreproducción y / o acumulación con respecto al balance de degradación-agregación. (26) Esto también puede ser relevante para el producto más abundante de procesamiento APP por las secretasas  $\alpha / \gamma$ , los péptidos p3 que contienen la secuencia 17-27 de A $\beta$ , componente principal de placas difusas en EA. (26)

## **AGER**

El gen AGER se encuentra dentro de la principal región de complejo de histocompatibilidad (MHC) clase III en el cromosoma 6 y comprende 11 exones entrelazados por 10 intrones. Se conocen aproximadamente 30 polimorfismos la mayoría de los cuales son polimorfismos de un solo nucleótido. Codifica un receptor transmembrana de la familia inmunoglobulina, receptor de unión a productos de la glicación avanzada (AGE) expresado ampliamente en los tejidos, más abundante en corazón, pulmón y músculo esquelético (26). El AGER se une mediante su dominio extracelular a productos finales AGE principalmente glicoproteínas, ligandos extracelulares endógenos y efectores intracelulares, esta unión al ligando inicia una compleja cascada de señalización intracelular, resultando la producción de ROS, efectos inmunoinflamatorios, proliferación celular o apoptosis (26). Prevalente a bajas concentraciones en una variedad de tejidos sanos, incluidos pulmones, riñones, hígado, sistema cardiovascular, nervioso e inmunológico (26). Dada su función inflamatoria en la inmunidad innata y su capacidad para detectar una clase de ligandos a través de un motivo estructural común, es un receptor de reconocimiento de patrones, tiene al menos otro ligando agonístico: proteína de grupo de alta movilidad B1 (HMGB1). HMGB1 es una proteína de unión al ADN intracelular importante en la remodelación de la cromatina que puede liberarse pasivamente mediante células necróticas y mediante la secreción activa de macrófagos, células asesinas naturales (NK) y células dendríticas.

Los productos finales de glicación avanzada (AGE) son producidos por la glicación no enzimática de proteínas, lípido y ácidos nucleicos al exponerse a la reducción de azúcares, esto conduce a la pérdida de la función enzimática, reticulación de proteínas o agregación. (30)(31). El organismo está expuesto a AGE exógenos procedentes de la dieta que son formados cuando los alimentos se procesan a altas temperaturas (frituras, parrilla, productos lácteos, carnes procesadas) y que aproximadamente el 10 % son absorbidos, y los AGE endógenos son generados continuamente en el cuerpo y con velocidad de formación aumentada en diabéticos debido al metabolismo alterado de la glucosa. (38)

AGER puede experimentar una dimerización o oligomerización multimodal impulsada por ligando. Debido al amplio empalme alternativo y la escisión mediada por metaloproteasa, RAGE coexiste como múltiples variantes de transcripción con diferentes propiedades de unión a ligando y diversas funciones biológicas. Además, se ha descrito una serie de polimorfismos, RAGE de longitud completa, RAGE negativo dominante (DN-RAGE) carece de dominio citoplasmático traduciendo señales de ligandos, RAGE N truncado (N-RAGE) carece de extremo N-terminal siendo incapaz de unirse a AGEs, y RAGE secretor / soluble truncado en C (sRAGE) carece de dominio citoplasmático y transmembrana es la forma dominante contrarrestando la patogénesis mediada por AGER al actuar como señuelo, esta disminuido en trastornos cardiovasculares y EA. (30) Debido a este polimorfismo y como receptor para AGE y otros ligandos proinflamatorios, RAGE ha sido investigado como un biomarcador potencial de numerosas afecciones patológicas. Los AGEs forman enlaces cruzados covalentes con proteínas aumentando el estrés oxidativo, la inflamación y mediante otros mecanismos, puede acelerar la disminución multisistémica que se produce con el envejecimiento, generando aumento de la permeabilidad vascular y elevada actividad migratoria de células mononucleares en los espacios subendoteliales y periarteriolas del hígado, riñón y músculo esquelético. Juegan además un papel importante en muchas patologías, incluyendo DM, inmunoinflamación, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas (30) La unión de AGEs a RAGE induce la señalización postreceptor sostenida, incluyendo la activación del factor nuclear-kappa B vía NF- $\kappa$  B y quinasas MAP, con disfunción celular prolongada y destrucción localizada de tejidos (30). Debido a la presencia de múltiples dominios (variable V y constantes C1 y C2), isoformas de receptores y polimorfismos, RAGE es capaz de interactuar con una serie de ligandos diferentes: desde AGE de bajo peso molecular, como N  $\epsilon$  -carboxi-metil- lisina (CML), N  $\epsilon$  -carboxi-etil-lisina (CEL) e hidroximidazonas derivadas de metilglioxal (MG-H) a estructuras más grandes que incluyen A $\beta$  (A $\beta$  1-40 y A $\beta$  1-42 ) y proteínas tales como HMGB1, S100 / calgranulinas, fibrillas A $\beta$  y reticulado / modificado beta (30). Los ligandos RAGE son de origen endógeno y típicamente se acumulan en los tejidos durante el envejecimiento, la inflamación o en respuesta a otras tensiones tisulares (30). La activación de las vías de señalización inflamatorias crónicas compromete la integridad vascular y estimula la cascada de coagulación causando daños cardiovasculares o renovasculares (30). La actividad de RAGE coincidió con una expresión mejorada de JNK o STAT5, los activadores de la vía NF- $\kappa$ B. (30)

Correlación de los niveles plasmáticos de RAGE soluble y RAGE secretor endógeno con estrés oxidativo en pacientes pre-diabéticos

El AGER soluble (AGERs), el AGER secretor endógeno (AGERes) y el estrés oxidativo desempeñan papeles importantes en la patogénesis de la diabetes y sus complicaciones. Los pacientes con alteración de la glucosa en ayunas (IFG) y / o tolerancia a la glucosa alterada (IGT), pre-diabéticos, pueden progresar fácilmente a la DM2 y lesión vascular, aumentando el, aunque la razón de esta predisposición sigue siendo desconocido (32).

La unión AGEs al AGER induce varios cambios bioquímicos, que conducen a los cambios patológicos vasculares característicos de la DM, mediante activación de múltiples vías de señalización celular descendentes que conducen a la activación del NF- $\kappa$ B, dando lugar a una mayor expresión de citocinas y metaloproteinasas, factores tisulares y otros efectores inflamatorios. Juntos, estos factores inducen el estrés oxidativo. Los AGEs también pueden aumentar la expresión de moléculas de adhesión tales como la molécula 1 de adhesión celular vascular (VCAM-1) y la molécula 1 de adhesiones intercelulares (ICAM-1) para aumentar la permeabilidad vascular, reducir el NO y producir factores tisulares procoagulantes que perjudican los vasos sanguíneos. AGER soluble (AGERs) y RAGE secretor endógeno (AGERes) son variantes de empalme AGER solubles. Debido a la falta de segmentos intracelulares, pueden competir con AGER en la membrana celular para unirse a AGE. Esto reduce las reacciones pro-inflamatorias y pro-coagulantes y los efectos biológicos del estrés oxidativo, bloqueando así el aumento de la permeabilidad vascular mediada por AGER y el estrés oxidativo (32).

El estrés oxidativo juega un papel esencial en la patogénesis de la DM y sus complicaciones. Un gran número de estudios han demostrado una relación entre la diabetes y los niveles elevados de estrés oxidativo. El nivel elevado de azúcar en la sangre puede producir ROS y elevar los niveles de estrés oxidativo en organismos enteros. Junto con la activación de NF- $\kappa$ B, se incrementa la producción de AGE y se activan la proteína quinasa C (PKC) y la vía de polioles. El desequilibrio antioxidante, el aumento del estrés oxidativo y la capacidad antioxidante alterada son razones importantes que causan las complicaciones crónicas de la diabetes. Curiosamente, Watson y otros creen que el DM tipo 2 se asocia con la generación inadecuada de ROS. Por lo tanto, otros estudios deberían discutir la relación entre el estrés oxidativo y las complicaciones macrovasculares de la diabetes (32). En la pre-diabetes, diversas anomalías en el metabolismo de la glucosa, el metabolismo de los lípidos, el metabolismo de la insulina y la fisiopatología de la aterosclerosis han llevado a la hipótesis de que AGERs, AGERes y estrés oxidativo están presentes durante la pre-diabetes y que estos tres parámetros podrían estar correlacionados.(39) El AGERs se correlaciona principalmente negativamente con 8-iso-PGF-2 $\alpha$ , MDA y HOMA-IR en individuos pre-diabéticos, sugiriendo que está afectado por el estrés oxidativo y la resistencia a la insulina, a la vez AGERes se correlaciona positivamente con el marcador antioxidante TAOC, pudiendo



desempeñar un papel antioxidante en la pre-diabetes. AGERes se relaciona principalmente con el estrés oxidativo, mientras que AGERes relacionado con antioxidante, lo que puede contribuir a estas diferencias. (39) AGERs, AGERes, y el estrés oxidativo se alteran temprano durante la pre-diabetes. AGERs y AGERes juegan diferentes papeles en el equilibrio entre el estrés oxidativo y la defensa antioxidante (32).

Debido a que numerosos trastornos neurodegenerativos, como EA, el Parkinson, las enfermedades de Huntington y la esclerosis lateral amiotrófica, se han relacionado con la neuroinflamación, demostrándose que los niveles de AGER aumentan en pacientes con EA, y se estimula su sobreexpresión con la unión al ligando, en células endoteliales cerebrales, astrocitos y neuronas del hipocampo, corteza entorrinal y circunvolución frontal superior, pero está ausente en cerebelo (30). En trastornos neurodegenerativos AGER está implicado en la vía amiloidogénica y en cascadas inmunoinflamatorias neurotóxicos independientes (30). Los AGE se acumulan en el cerebro humano con el aumento de la edad y se encuentran en los ovillos neurofibrilares y en las placas seniles en EA. En adultos mayores con enfermedad cerebrovascular, se encontró una CML elevada en neuronas corticales y vasos cerebrales y se relacionó con la gravedad del deterioro cognitivo. Los pacientes diabéticos están en mayor riesgo de desarrollar EA (32).

Varias vías intracelulares son activadas por AGER, y aparte de la inhibición de LTP, la activación de RAGE puede estimular la expresión de la enzima de escisión de APP  $\beta$ -sitio 1 (BACE1), una enzima que es necesario para la producción de A $\beta$ . En consecuencia, A $\beta$  podría ejercer una retroalimentación positiva sobre su propia producción (33). Por otra parte, RAGE puede inducir su propia expresión a través de la activación del factor de transcripción NF- $\kappa$  B, y por lo tanto iniciar potencialmente una retroalimentación (33). Hay una forma soluble RAGE (AGERs) que se forma por empalme alternativo o escisión proteolítica por la proteinasa ADAM 10 (33) El AGERs contiene el sitio de unión al ligando, pero no tiene las propiedades de señalización de RAGE de longitud completa (33), podría actuar como un receptor de señuelo compitiendo con AGERfl para ligandos. Además, se ha demostrado que RAGEs está presente en niveles más bajos en la sangre y el cerebro de pacientes con EA (33)

Los estudios realizados han demostrado que en AGER G82S SNP (rs2070600) se asocia con mayor riesgo de EA. Se encontró que la asociación de EA era significativa entre los no portadores de APOE  $\epsilon$ 4, pero ligeramente más débil y no significativa entre portadores de APOE  $\epsilon$ 4. En cuanto a los efectos biológicos se observa que AGER puede afectar tanto a la producción y acumulación de A $\beta$  en el cerebro, en SNP G82S posiblemente el efecto esté relacionado con la unión del ligando, siendo poro probable que aumente el riesgo de EA, al no mostrar relación con

los niveles de A $\beta$ . La variante 82S aumenta la afinidad de unión al ligando del receptor, conduciendo potencialmente a una mayor señalización, que a su vez, aceleraría el procesamiento APP a través de BACE1, al ser AGER regulado positivamente éste, y por lo tanto aumentar la producción de A $\beta$  (33).

Debido a que RAGE permanece activado siempre que estén presentes los péptidos A $\beta$  y los oligómeros A $\beta$ , RAGE puede participar en la iniciación y amplificación de la toxicidad neuronal A $\beta$ . Se ha demostrado también que RAGE contribuye a la translocación de A $\beta$  1-40 del espacio extracelular al intracelular, se disemina entre las células y provoca daño neuronal (30). Los AGEs contribuyen al declive multisistémico que se produce con el envejecimiento, contribuyen a la inflamación y daño tisular a través la unión a AGER. AGEs entrecruzan el colágeno y otras proteínas y aumentan así la rigidez de los tejidos tales como las arterias principales, el corazón, los huesos y los músculos (31) Estudios en modelos animales sugieren que las altas exposiciones al AGE predisponen al desarrollo de resistencia a la insulina y DM (31). Los AGEs elevados en suero son un factor de riesgo independiente de eventos cardíacos y mortalidad cardiovascular entre pacientes con insuficiencia cardíaca y DMT2. Además los AGE se acumulan en eritrocitos y alteran su deformabilidad y pueden unirse con RAGE en el endotelio vascular. Se encontraron altos niveles de AGE séricos en pacientes anémicos con DMT2 (31). El hígado es un sitio para el aclaramiento y catabolismo de AGEs circulantes, pero también puede ser un órgano diana para AGEs. Se desconoce si el envejecimiento afecta la absorción dietética de AGE o la producción de AGE endógenos. El estrés oxidativo y la peroxidación lipídica pueden dar lugar a AGE, pudiendo ser los AGEs encontrados en los tejidos dañados marcadores de estrés oxidativo y la inflamación, en lugar de un factor causante subyacente (25). Los estudios histopatológicos muestran que AGE y RAGE están asociados con las lesiones de la EA; la degeneración macular relacionada con la edad; aterosclerosis; glomerulosclerosis; y fibrosis intersticial en el riñón, osteoporosis y sarcopenia. (31). Este aumento de RAGE conduce a la afluencia de A $\beta$  y monocitos, en las neuronas aumenta la actividad de la enzima  $\beta$ -secretasa productora de A $\beta$  (BACE1), induce hiperfosforilación de tau, neuroinflamación y deteriora la función neuronal. (30) Estos cambios llevan a la inducción y progresión de la neurodegeneración. En la microgliales la interacción RAGE-S100B conduce a la activación del eje Rac1/JNK y los factores de transcripción (NF- $\kappa$ B y AP-1), demostrado en modelos animales. Esto aumenta la producción de BACE1 y la liberación de marcadores inflamatorios microgliales / neuronales, tales como TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 y quimioquina ligando 2 (CCL2), en el cerebro hipocampal y cortical in vivo (30). Los AGEs elevados en suero son un factor de riesgo independiente de eventos cardíacos y mortalidad cardiovascular entre pacientes (31). Los AGEs contribuyen al declive multisistémico que se produce con el envejecimiento, contribuyen a la inflamación y daño tisular a través la

unión a AGER. AGEs entrecruzan el colágeno y otras proteínas y aumentan así la rigidez de los tejidos tales como las arterias principales, el corazón, los huesos y los músculos. Los estudios histopatológicos muestran que AGE y RAGE están asociados con las lesiones de la enfermedad de Alzheimer; la degeneración macular relacionada con la edad; aterosclerosis; glomerulosclerosis; y fibrosis intersticial en el riñón, osteoporosis y sarcopenia (31).

## **IDE**

El gen IDE se encuentra ubicado en el cromosoma 10, codifica la enzima degradante de insulina (IDE), una proteasa de zinc de la subfamilia de metaloproteasa M16A (23) altamente conservada, dependiente de tiol (24) capaz de escindir múltiples polipéptidos cortos de secuencias variables (23) como insulina, glucagón, A $\beta$ , somatostatina, péptido natriurético, calcitonina y factores de crecimiento similares a la insulina I y II, factor de crecimiento transformante  $\alpha$ , también convierte  $\beta$ -endorfina en  $\gamma$ -endormina (24, 25). Esta metaloproteasa es definida por una secuencia canónica "invertida" en el sitio activo (H XX EH en lugar de HE XX H), en comparación con otros miembros de la familia (26), y tiene preferencia por restos hidrofóbicos básicos (Arg, Lis) o voluminosos (fenilalanina, leucina, tirosina) (24).

Mediante empalme alternativo, la IDE tiene dos isoformas (25). Presenta unidades N-terminal y C-terminal definidas que forman una cámara proteolítica que contiene el sitio activo de unión al zinc (25). Parecen existir en dos conformaciones: una conformación abierta, de mayor actividad catalítica dado el acceso del sustrato al sitio activo, y un estado cerrado (25).

Se distribuye particularmente abundante en cerebro, hígado y músculos (25). En estos tejidos se localiza principalmente en el citosol y pequeñas cantidades pero significativas en membranas plasmáticas, peroxisomas, endosomas y mitocondrias (24, 25). Puede existir una forma soluble o que la presencia en el medio extracelular se deba a liberación por daño celular o fugas celulares por la permeabilidad celular (23). Luego de la unión de la insulina a su receptor en la membrana plasmática, se internaliza en la célula, donde es liberada de los endosomas en el citosol y sigue su camino al núcleo. IDE se encuentra a ser principalmente activa en el citosol, por lo tanto, parece participar en la regulación de la translocación de la insulina en el núcleo. (25)

IDE se ha relacionado a procesos celulares como señalización del receptor de esteroides y modulación del proteasoma dependiente de la insulina (25). Su regulación positiva ante la exposición al estrés se basaliza en la modulación de la vía ubiquitina-proteasoma y por lo tanto en la respuesta de choque térmico (HSR) (25), actuando sobre la homeostasis de ubiquitina y / o directamente sobre la actividad enzimática del proteasoma (25).

Otra función de la IDE es la regulación de la abundancia y señalización de glucagón y amilina, además de la de insulina. Las condiciones fisiológicas que aumentan los niveles de insulina y amilina, como la administración oral de glucosa, provocan inhibición aguda de IDE conduciendo a una tolerancia a la glucosa sustancialmente mejorada ya un vaciado gástrico más lento. (23)

El dominio extracelular del IDE interactúa con la glicoproteína E (gE) del virus varicela-zoster (VZV), causante de la varicela y herpes zoster, una proteína esencial para la infección viral, siendo IDE un receptor celular tanto para VZV. (23)

Otra función de la IDE es la regulación de la abundancia y señalización de glucagón y amilina, además de la de insulina. Las condiciones fisiológicas que aumentan los niveles de insulina y amilina, como la administración oral de glucosa, provocan inhibición aguda de IDE conduciendo a una tolerancia a la glucosa sustancialmente mejorada ya un vaciado gástrico más lento. (23)

Mediante la degradación de insulina dependiente de tiol y zinc, la IDE obstaculiza la participación de la hormona en procesos nucleares como el crecimiento celular y la expresión génica, teniendo también un papel regulador sobre la progresión tumoral y metástasis (25), además se ha identificado una vinculación de la IDE con enfermedades relacionadas con el envejecimiento como DMT2 y EA tardía (23). La hipofunción IDE puede subyacer o contribuir a la EA y DMT2 y proporcionar un mecanismo para la asociación reconocida entre hiperinsulinemia, diabetes y enfermedad de Alzheimer. (27) Identificándose haplotipos de IDE y se han asociado SNPs individuales a riesgo aumentado o disminuido de desarrollar estas enfermedades (25).

El nivel de A $\beta$  cerebral está determinado por el equilibrio entre su producción mediante,  $\beta$ - y  $\gamma$ -secretasas a partir de la escisión de APP, y su eliminación ( a través de la sangre y barreras de LCR) así como la degradación enzimática de A $\beta$  (principalmente neprilisina-NEP, enzima degradante de la insulina-IDE y enzima de conversión de endotelina- ECE-1) (23, 25). Normalmente el A $\beta$  se elimina rápidamente del cerebro tras su síntesis (25), las deficiencias en la eliminación o degradación enzimáticas llevan a su acumulación y agregación, conduciendo a la demencia y EA (25).

El desequilibrio entre la biosíntesis y eliminación produce la acumulación del A $\beta$  en la EA. La NEP metaloproteasas de zinc transmembrana, parece ser la proteasa A $\beta$  dominante, capaz de degradar formas monoméricas y oligoméricas de A $\beta$ ; ECE e IDE probablemente participan en la regulación de la NEP, actuando ECE e IDE como defensa de segunda línea (23). IDE es la principal enzima degradante de A $\beta$  soluble a pH neutro (28), no solo implicada en la degradación del A $\beta$  extracelular, sino que también tiene la capacidad de eliminar los productos citoplásmicos de APP (23). La sobreexpresión de IDE atenúa la formación de placa cerebral, la patología

secundaria y previene la muerte prematura. La sobreexpresión de IDE atenúa la formación de placa cerebral, la patología secundaria y previene la muerte prematura. En la EA como en el envejecimiento, existe una disminución de los ARNm neuronal, expresión como de la actividad catalítica de IDE en el hipocampo (23, 28), en la EA la actividad reducida puede ser explicada por menores niveles de ARNm de IDE o modificaciones post-traduccionales tales como daño oxidativo (32).

Otro conjunto de metaloendopeptidasas de zinc integral de membrana son las ECE, localizadas principalmente en células endoteliales, pero también detectadas en neuronas y glías (23). Existen dos isoformas ECE-1 y ECE-2, con 59% de homología de secuencia y actividad catalítica similar; ECE-1 predomina en cerebro, identificada como nueva enzima degradante de A $\beta$  (23). Esto se demostró mediante estudios en los que se observó que deficiencia de ECE-1 aumenta los niveles de A $\beta$  cerebral, mientras que su sobreexpresión disminuye la acumulación de A $\beta$  en la corteza y el hipocampo (23).

Han sido identificadas tres variantes genéticas de IDE (rs6583817, rs5786996; rs4646953) que tendrían asociación con la expresión de niveles aumentados de IDE y disminución de los de A $\beta$ . Documentándose un vínculo entre el aumento de insulina cerebral y mejoras en las funciones ejecutivas cognitivas (29). IDE no predeciría el riesgo DMT2, pero si se asociaría junto con otras variantes genéticas, con salud vascular y por consiguiente al deterioro cognitivo del envejecimiento, conduciendo a mitigación en los fenotipos cognitivos. La variante de IDE (rs6583817) mayor (G) proporcionaría una protección frente a la disminución de las funciones efectoras asociadas con el envejecimiento (26). El riesgo de DT2 pueden deberse a la disminución de la expresión de IDE, que puede resultar en hiperinsulinemia y consecuentes déficits cognitivos. Alternativamente, los SNPs IDE asociados con un menor riesgo de AD pueden deberse a una mayor expresión de IDE y a disminuciones en el nivel de A $\beta$  (28).

La relación entre IDE y EA se ha asociado también con la isoforma de APOE, siendo los niveles de IDE menores en pacientes con EA portadores de APOE4, sugiriendo una interacción entre IDE y APOE4 en la afectación del metabolismo de A $\beta$  (29). Mientras que la EA familiar de inicio precoz se asocia con una mayor generación de A $\beta$ , en la EA de inicio tardío puede estar implicado el aclaramiento defectuoso de A $\beta$ . La IDE cataboliza tanto el A $\beta$  como el dominio intracelular APP (AICD). (29) IDE tiene una afinidad preferente por la insulina, por lo que la presencia de insulina inhibirá la degradación de otros sustratos medida por IDE, entre ellos el A $\beta$ . (25) Pacientes con EA de inicio tardío presentan hiperinsulinemia y anomalías del metabolismo de la insulina asociadas con la apolipoproteína E (APOE). (29) Existiendo una reducción de la expresión cerebral de IDE en pacientes con EA de inicio tardío, siendo ésta reducción característica de los

pacientes con el alelo APOE- $\epsilon$ 4, además ser característica también en pacientes con APOE- $\epsilon$ 4 la hiperglucemia (29).

A nivel cerebral A  $\beta$  induce la secreción extracelular de IDE funcional de astrocitos. Una secreción de IDE inducida por  $\beta$  está asociada con una vía secretora no convencional basada en autofagia (26), una vía de degradación celular inducida por la inhibición de la vía de señalización de MTOR, que representa un proceso biológico fundamental con impacto en procesos como el envejecimiento, cáncer, enfermedades neurodegenerativas, inmunidad y trastornos metabólicos. (26) La autofagia también tiene un papel en los procesos no autofágicos, especialmente en la vía secretora (autosecreción), regulando la secreción no convencional de varias proteínas citosólicas como IL-1B (interleuquina 1, beta), IL18, HMGB1 (grupo de alta movilidad en el cuadro 1) y VWF (factor de von Willebrand), así como ATP. (26) Pacientes con EA, la autofagia sería inhibida debido a un defecto lisosomal, el cual resultaría en acumulación de vacuolas autofágicas patológicas a nivel cerebral, debida a la disfunción en la degradación autofagia-lisosómica. El A $\beta$  podría degradarse induciendo la secreción de IDE de los astrocitos a través de una vía secretora basada en autofagia en condiciones AD (26).

La vía de resistencia a la insulina cerebral modifica el rendimiento cognitivo y demostrándose las influencias en ausencia de diabetes. (26) El IDE representa un gen potencial de susceptibilidad a DA, varios estudios independientes han demostrado que la variante rs1887922 exhibe interacciones con medidas cuantitativas relacionadas con AD, incluyendo cargas de placas A $\beta$  y densidades de enredos neurofibrilares. (26) se ha sugerido que las regiones del cerebro que regulan la ejecución son objetivos de IDE, como la corteza prefrontal (PFC). La IGF1R, rs2229765 locus probable candidato debido a su asociación con los niveles plasmáticos de IGF-1. (26) Estos loci están relacionados con el riesgo de demencia vascular, la variación rs1815009 de IGF1R puede tener un papel en la determinación de la gravedad de AD, aportando mayor apoyo a las funciones de IGF1R en el desarrollo. (26) En la EA se la demostrado la alta fosforilación de IRS-1 suprimiendo su actividad de transmitir señales (26), este proceso de fosforilación está regulado principalmente por la inhibición de la retroalimentación principalmente por AKT, MTOR, GSK-3 y PKC y la inhibición anticipada por JNK e IKK, pudiéndose predecir la capacidad de memoria mediante niveles de expresión de estas moléculas (26).

Se detectaron relaciones positivas con los niveles periféricos de IGF-1 y volumen cerebral total, además variaciones genéticas relacionadas con la resistencia a la insulina determinan atrofia cerebral en el tiempo, incluyendo HK2, PIK3R3, PIK3CG, ACACA y G6PC. (26) La resistencia a la insulina cerebral influye en la función cerebral. (26) asociándose con un mejor reclutamiento

funcional del cerebro frontal-parietal para compensar las pérdidas neurales de otras regiones, en la evolución de la enfermedad, las capacidades para proporcionar una compensación efectiva disminuiría, mostrándose graves déficit cognitivos. (26) Las alteraciones neurobiológicas relacionadas con la resistencia a la insulina cerebral modifican el progreso de la EA al influir en la eficiencia global de las redes funcionales cerebrales. (26)

IDE, se han encontrado en estrecha asociación con o dentro de las placas amiloides en cerebros EA. (26) se ha estudiado la interacción de A $\beta$  y IDE que evidenciaron que el monomérico A $\beta$  interactúa con parte del sitio de unión al sustrato del IDE para producir, a través de un reordenamiento lento, el complejo peptídico-proteasa irreversible. (26) IDE, además de su función como insulina peptidasa, puede actuar en intracelular como extracelularmente como un captador de péptidos con una alta propensión a formar agregados  $\beta$  degradándolos en una etapa monomérica. (26) Se especula que una unión no catalítica irreversible puede ser una alternativa para atrapar péptidos metastables antes de que alcancen una concentración crítica que promueva la nucleación, resultando menos accesibles a la proteólisis. Este tipo de interacción puede ser una propiedad general del IDE y puede adquirir importancia patogénica en el contexto de la especificidad tisular de la acumulación amiloide. (26) En el caso del cerebro en la EA, un complejo estequiométrico irreversible que implica A $\beta$  y un conformación "suicida" de IDE que entra en una vía sin salida puede comprometer el recambio de insulina y promover la resistencia a la insulina local en condiciones en las que A $\beta$  se produce a una velocidad elevada tal como durante el estrés hipóxico celular. Además, la sensibilidad del IDE al daño oxidativo puede reducir su actividad catalítica y promover aún más la formación de complejos IDE  $\cdot$  A $\beta$ . IDE es altamente sensible a A $\beta$  sobreproducción y / o acumulación con respecto al balance de degradación-agregación. (26) Esto también puede ser relevante para el producto más abundante de procesamiento APP por las secretasas  $\alpha / \gamma$ , los péptidos p3 que contienen la secuencia 17-27 de A $\beta$ , componente principal de placas difusas en EA. (26)

## **AGER**

El gen RAGE se encuentra dentro de la principal región de complejo de histocompatibilidad (MHC) clase III en el cromosoma 6 y comprende 11 exones entrelazados por 10 intrones. Se conocen aproximadamente 30 polimorfismos, la mayoría de los cuales son polimorfismos de un solo nucleótido. Codifica un receptor transmembrana de la familia inmunoglobulina, receptor de unión a productos de la glicación avanzada (AGE) expresado ampliamente en los tejidos, más abundante en corazón, pulmón y músculo esquelético. (26) El AGER se une mediante su dominio extracelular a productos finales de glicación avanzada (AGE) principalmente glicoproteínas, ligandos extracelulares endógenos y efectores intracelulares, esta unión al ligando inicia una

compleja cascada de señalización intracelular, resultando la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), efectos inmunoinflamatorios, proliferación celular o apoptosis. (26) Prevalente a bajas concentraciones en una variedad de tejidos sanos, incluidos pulmones, riñones, hígado, sistema cardiovascular, nervioso e inmunológico. (26) Dada su función inflamatoria en la inmunidad innata y su capacidad para detectar una clase de ligandos a través de un motivo estructural común, es un receptor de reconocimiento de patrones, tiene al menos otro ligando agonístico: proteína de grupo de alta movilidad B1 (HMGB1). HMGB1 es una proteína de unión al ADN intracelular importante en la remodelación de la cromatina que puede liberarse pasivamente mediante células necróticas y mediante la secreción activa de macrófagos, células asesinas naturales (NK) y células dendríticas.

Los productos finales de glicación avanzada (AGE) son producidos por la glicación no enzimática de proteínas, lípido y ácidos nucleicos al exponerse a la reducción de azúcares, esto conduce a la pérdida de la función enzimática, reticulación de proteínas o agregación. (30, 31) El organismo está expuesto a AGE exógenos procedentes de la dieta que son formados cuando los alimentos se procesan a altas temperaturas (frituras, parrilla, productos lácteos, carnes procesadas) y que aproximadamente el 10 % son absorbidos, y los AGE endógenos generados continuamente en el cuerpo y con velocidad de formación aumentada en diabéticos debido al metabolismo alterado de la glucosa (31).

RAGE puede experimentar una dimerización o oligomerización multimodal impulsada por ligando. Debido al amplio empalme alternativo y la escisión mediada por metaloproteasa, RAGE coexiste como múltiples variantes de transcripción con diferentes propiedades de unión a ligando y diversas funciones biológicas. Además, se ha descrito una serie de polimorfismos, RAGE de longitud completa, RAGE negativo dominante (DN-RAGE) carece de dominio citoplasmático traduciendo señales de ligandos, RAGE N truncado (N-RAGE) carece de extremo N-terminal siendo incapaz de unirse a AGEs, y RAGE secretor / soluble truncado en C (sRAGE) carece de dominio citoplasmático y transmembrana es la forma dominante contrarrestando la patogénesis mediada por RAGE al actuar como señuelo, esta disminuido en trastornos cardiovasculares y EA. (30). Debido a este polimorfismo y como receptor para AGE y otros ligandos proinflamatorios, RAGE ha sido investigado como un biomarcador potencial de numerosas afecciones patológicas. Los AGEs forman enlaces cruzados covalentes con proteínas aumentando el estrés oxidativo, la inflamación y mediante otros mecanismos, puede acelerar la disminución multisistémica que se produce con el envejecimiento, generando aumento de la permeabilidad vascular y elevada actividad migratoria de células mononucleares en los espacios subendoteliales y periarteriolas del hígado, riñón y músculo esquelético. Juegan además un papel importante en muchas



patologías, incluyendo diabetes mellitus, inmunoinflamación, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas (30). La unión de AGEs a RAGE induce la señalización postreceptor sostenida, incluyendo la activación del factor nuclear-kappa B vía NF- $\kappa$  B y quinasas MAP, con disfunción celular prolongada y destrucción localizada de tejidos (30).

Debido a la presencia de múltiples dominios (variable V y constantes C1 y C2), isoformas de receptores y polimorfismos, RAGE es capaz de interactuar con una serie de ligandos diferentes: desde AGE de bajo peso molecular, como N  $\epsilon$  -carboxi-metil- lisina (CML), N  $\epsilon$  -carboxi-etil- lisina (CEL) e hidroximidazolonas derivadas de metilglioxal (MG-H) a estructuras más grandes que incluyen A $\beta$  (A $\beta$  1-40 y A $\beta$  1-42 ) y proteínas tales como HMGB1, S100 / calgranulinas, fibrillas A $\beta$  y reticulado / modificado beta.

RAGEe asemeja a un receptor de reconocimiento de patrones, como receptores de tipo Toll (TLR) (30). Los ligandos RAGE son de origen endógeno y típicamente se acumulan en los tejidos durante el envejecimiento, la inflamación o en respuesta a otras tensiones tisulares (30).

RAGE y sus ligandos proinflamatorias han sido implicados en condiciones de inflamación crónica, tales como la aterosclerosis, complicaciones de la diabetes, y la enfermedad vascular no diabética y también en la lesión por isquemia reperfusión cardíaca. (30) La activación de las vías de señalización inflamatorias crónicas compromete la integridad vascular y estimula la cascada de coagulación causando daños cardiovasculares o renovasculares. (30) La actividad de RAGE coincidió con una expresión mejorada de JNK o STAT5, los activadores de la vía NF- $\kappa$ B. (30)

El RAGE soluble (AGERs), el RAGE secretor endógeno (AGERes) y el estrés oxidativo desempeñan papeles importantes en la patogénesis de la diabetes y sus complicaciones. Los pacientes con alteración de la glucosa en ayunas (IFG) y / o tolerancia a la glucosa alterada (IGT), pre-diabéticos, pueden progresar fácilmente a la diabetes tipo 2 y lesión vascular, aumentando el riesgo de enfermedad cardiovascular en los pacientes pre-diabéticos, aunque la razón de esta predisposición sigue siendo desconocido (32).

La unión AGEs al receptor para AGE (RAGE) induce varios cambios bioquímicos, que conducen a los cambios patológicos vasculares característicos de la diabetes mellitus (DM), mediante activación de múltiples vías de señalización celular descendentes que conducen a la activación del factor nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), dando lugar a una mayor expresión de citocinas y metaloproteinasas, factores tisulares y otros efectores inflamatorios. Juntos, estos factores inducen el estrés oxidativo. Los AGEs también pueden aumentar la expresión de moléculas de adhesión tales como la molécula 1 de adhesión celular vascular (VCAM-1) y la molécula 1 de adhesiones intercelulares (ICAM-1) para aumentar la permeabilidad vascular, reducir el óxido

nítrico y producir factores tisulares procoagulantes que perjudican los vasos sanguíneos. RAGE soluble (AGERs) y RAGE secretor endógeno (AGERes) son variantes de empalme RAGE solubles. Debido a la falta de segmentos intracelulares, pueden competir con RAGE en la membrana celular para unirse a AGE. Esto reduce las reacciones pro-inflamatorias y pro-coagulantes y los efectos biológicos del estrés oxidativo, bloqueando así el aumento de la permeabilidad vascular mediada por RAGE y el estrés oxidativo. Se especuló que AGERs y AGERes ejercen efectos protectores en los vasos sanguíneos.

El estrés oxidativo juega un papel esencial en la patogénesis de la diabetes y sus complicaciones. Un gran número de estudios han demostrado una relación entre la diabetes y los niveles elevados de estrés oxidativo. El nivel elevado de azúcar en la sangre puede producir especies reactivas de oxígeno (ROS) y elevar los niveles de estrés oxidativo en organismos enteros. Junto con la activación de NF- $\kappa$ B, se incrementa la producción de AGE y se activan la proteína quinasa C (PKC) y la vía de polioles. El desequilibrio antioxidante, el aumento del estrés oxidativo y la capacidad antioxidante alterada son razones importantes que causan las complicaciones crónicas de la diabetes. Curiosamente, Watson y otros creen que el DM tipo 2 se asocia con la generación inadecuada de ROS. Por lo tanto, otros estudios deberían discutir la relación entre el estrés oxidativo y las complicaciones macrovasculares de la diabetes (32).

Estudios anteriores que evaluaron AGERs y AGERes en pacientes diabéticos se han centrado principalmente en la diabetes abierta, y pocos estudios han medido cambios en los niveles de AGERs y AGERes en individuos pre-diabéticos. En la pre-diabetes, diversas anomalías en el metabolismo de la glucosa, el metabolismo de los lípidos, el metabolismo de la insulina y la fisiopatología de la aterosclerosis han llevado a la hipótesis de que AGERs, AGERes y estrés oxidativo están presentes durante la pre-diabetes y que estos tres parámetros podrían estar correlacionados (32).

El AGERs se correlaciona principalmente negativamente con 8-iso-PGF-2 $\alpha$ , MDA y HOMA-IR en individuos pre-diabéticos, sugiriendo que está afectado por el estrés oxidativo y la resistencia a la insulina, a la vez AGERes se correlaciona positivamente con el marcador antioxidante TAOC, pudiendo desempeñar un papel antioxidante en la pre-diabetes. AGERs se relaciona principalmente con el estrés oxidativo, mientras que AGERes relacionado con antioxidante, lo que puede contribuir a estas diferencias (32).

AGERs, RAGEes, y el estrés oxidativo se alteran temprano durante la pre-diabetes. AGERs y esRAGE juegan diferentes papeles en el equilibrio entre el estrés oxidativo y la defensa antioxidante. Se necesitan investigaciones básicas y clínicas adicionales para determinar si el riesgo de complicaciones cardiovasculares en pacientes pre-DM podría predecirse usando los

niveles AGERs y AGERes. Además, los estudios futuros deberían investigar si las complicaciones cardiovasculares podrían reducirse modificando AGERs, AGERes o estrés oxidativo. La limitación principal del estudio actual es el pequeño tamaño de la muestra debido al corto período de estudio. Además, debido a que la población estudiada estaba constituida por pacientes pre-diabéticos, no se comparó AGERes, AGERs y estrés oxidativo en individuos con y sin aquellos con enfermedad macrovascular (32).

Debido a que numerosos trastornos neurodegenerativos, como el Alzheimer, el Parkinson, las enfermedades de Huntington y la esclerosis lateral amiotrófica, se han relacionado con la neuroinflamación, demostrándose que los niveles de RAGE aumentan en pacientes con EA, y se estimula su sobreexpresión con la unión al ligando, presentándose en células endoteliales cerebrales, astrocitos y neuronas del hipocampo, corteza entorrinal y circunvolución frontal superior, pero está ausente en cerebelo (30). En trastornos neurodegenerativos RAGE está implicado en la vía amiloidogénica y en cascadas inmunoinflamatorias neurotóxicas independientes (30). Los AGE se acumulan en el cerebro humano con el aumento de la edad y se encuentran en los ovillos neurofibrilares y en las placas seniles en pacientes con enfermedad de Alzheimer. En adultos mayores con enfermedad cerebrovascular, se encontró una CML elevada en neuronas corticales y vasos cerebrales y se relacionó con la gravedad del deterioro cognitivo. Los pacientes diabéticos están en mayor riesgo de desarrollar la enfermedad de Alzheimer, y una mayor deposición de AGEs y upregulation de RAGE se encontró en los cerebros de pacientes diabéticos con enfermedad de Alzheimer.

Varias vías intracelulares son activadas por RAGE, y aparte de la inhibición de LTP, la activación de RAGE puede estimular la expresión de la enzima de escisión de APP  $\beta$ -sitio 1 (BACE1), una enzima que es necesario para la producción de  $A\beta$ . En consecuencia,  $A\beta$  podría ejercer una retroalimentación positiva sobre su propia producción (33) Por otra parte, RAGE puede inducir su propia expresión a través de la activación del factor de transcripción NF- $\kappa$  B, y por lo tanto iniciar potencialmente una retroalimentación (33).

Hay, sin embargo, otra faceta de RAGE; una forma soluble, que se forma por empalme alternativo o escisión proteolítica por la proteinasa ADAM 10 (33). El RAGE soluble (sRAGE) contiene el sitio de unión al ligando, pero no tiene las propiedades de señalización de RAGE de longitud completa (flRAGE) (33). Como resultado, podría actuar como un receptor de señuelo compitiendo con flRAGE para ligandos. Además, se ha demostrado que sRAGE está presente en niveles más bajos en la sangre y el cerebro de pacientes con EA (33).

Los estudios realizados han demostrado que el AGER G82S SNP (rs2070600) se asocia con mayor riesgo de EA. Se encontró que la asociación de ea era significativa entre los no portadores de

APOE  $\epsilon$ 4, pero ligeramente más débil y no significativa entre portadores de APOE  $\epsilon$ 4. En cuanto a los efectos biológicos se observa que AGER puede afectar tanto a la producción y acumulación de A $\beta$  en el cerebro, en SNP G82S posiblemente el efecto esté relacionado con la unión del ligando, siendo poco probable que aumente el riesgo de EA, al no mostrar relación con los niveles de A $\beta$ . La variante 82S aumenta la afinidad de unión al ligando del receptor, conduciendo potencialmente a una mayor señalización, que a su vez, aceleraría el procesamiento APP a través de BACE1, al ser AGER regulado positivamente éste, y por lo tanto aumentar la producción de A $\beta$  (33).

Debido a que RAGE permanece activado siempre que estén presentes los péptidos A $\beta$  y los oligómeros A $\beta$ , RAGE puede participar en la iniciación y amplificación de la toxicidad neuronal A $\beta$ . Se ha demostrado también que RAGE contribuye a la translocación de A $\beta$  1-40 del espacio extracelular al intracelular, se disemina entre las células y provoca daño neuronal (30). Los AGEs contribuyen al declive multisistémico que se produce con el envejecimiento, contribuyen a la inflamación y daño tisular a través de la unión a AGER. AGEs entrecruzan el colágeno y otras proteínas y aumentan así la rigidez de los tejidos tales como las arterias principales, el corazón, los huesos y los músculos. Los estudios histopatológicos muestran que AGE y RAGE están asociados con las lesiones de la enfermedad de Alzheimer; la degeneración macular relacionada con la edad; aterosclerosis; glomerulosclerosis; y fibrosis intersticial en el riñón, osteoporosis y sarcopenia. (31). Estudios en modelos animales sugieren que las altas exposiciones al AGE predisponen al desarrollo de resistencia a la insulina y diabetes, no existiendo evidencia si los altos niveles de AGE en circulación tienen un mayor riesgo de resistencia a la insulina, síndrome metabólico u otros problemas de salud en la vida posterior (31).

El envejecimiento se asocia con un aumento de la deposición de AGE y una mayor expresión de RAGE en el miocardio. En pacientes diabéticos con insuficiencia cardíaca, la rigidez cardíaca se asocia con la deposición de AGE miocárdica. Los pacientes con diabetes tienen mayores concentraciones séricas de AGE en comparación con controles sanos. En pacientes con DMT2, niveles plasmáticos de AGE se asociaron con gravedad de la enfermedad coronaria y microangiopatía (31).

Los AGEs elevados en suero son un factor de riesgo independiente de eventos cardíacos y mortalidad cardiovascular entre pacientes con insuficiencia cardíaca y DMT2. Además los AGE se acumulan en eritrocitos y alteran su deformabilidad y pueden unirse con RAGE en el endotelio vascular. Se encontraron altos niveles de AGE séricos en pacientes anémicos con diabetes tipo 2 (32).

El envejecimiento se asocia con un aumento de la deposición de AGE y una mayor expresión de RAGE en el miocardio. En pacientes diabéticos con insuficiencia cardíaca, la rigidez cardíaca se asocia con la deposición de AGE miocárdica. Los pacientes con diabetes tienen mayores concentraciones séricas de AGE en comparación con controles sanos. En pacientes con DMT2, niveles plasmáticos de AGE se asociaron con gravedad de la enfermedad coronaria y microangiopatía (31).

Los AGEs elevados en suero son un factor de riesgo independiente de eventos cardíacos y mortalidad cardiovascular entre pacientes con insuficiencia cardíaca y DMT2. Además los AGE se acumulan en eritrocitos y alteran su deformabilidad y pueden unirse con RAGE en el endotelio vascular. Se encontraron altos niveles de AGE séricos en pacientes anémicos con diabetes tipo 2.

El hígado es un sitio para el aclaramiento y catabolismo de AGEs circulantes, pero también puede ser un órgano diana para AGEs.

Se desconoce si el envejecimiento afecta la absorción dietética de AGE o la producción de AGE endógenos. El estrés oxidativo y la peroxidación lipídica pueden dar lugar a AGE, pudiendo ser los AGEs encontrados en los tejidos dañados marcadores de estrés oxidativo y la inflamación, en lugar de un factor causante subyacente (25).

Los AGEs contribuyen al declive multisistémico que se produce con el envejecimiento, contribuyen a la inflamación y daño tisular a través la unión a AGER. AGEs entrecruzan el colágeno y otras proteínas y aumentan así la rigidez de los tejidos tales como las arterias principales, el corazón, los huesos y los músculos. Los estudios histopatológicos muestran que AGE y RAGE están asociados con las lesiones de la enfermedad de Alzheimer; la degeneración macular relacionada con la edad; aterosclerosis; glomerulosclerosis; y fibrosis intersticial en el riñón, osteoporosis y sarcopenia (31).

Estudios en modelos animales sugieren que las altas exposiciones al AGE predisponen al desarrollo de resistencia a la insulina y diabetes, no existiendo evidencia si los altos niveles de AGE en circulación tienen un mayor riesgo de resistencia a la insulina, síndrome metabólico u otros problemas de salud en la vida posterior (31). Este aumento de RAGE conduce a la afluencia de A $\beta$  y monocitos, en las neuronas aumenta la actividad de la enzima  $\beta$ -secretasa productora de A $\beta$  (BACE1), induce hiperfosforilación de tau, neuroinflamación y deteriora la función neuronal. (30) Estos cambios llevan a la inducción y progresión de la neurodegeneración. En la microgliales la interacción RAGE-S100B conduce a la activación del eje Rac1/JNK y los factores de transcripción (NF- $\kappa$ B y AP-1), demostrado en modelos animales. Esto aumenta la producción de

BACE1 y la liberación de marcadores inflamatorios microgliales / neuronales, tales como TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 y quimioquina ligando 2 (CCL2), en el cerebro hipocampal y cortical in vivo. (30)

Los AGEs elevados en suero son un factor de riesgo independiente de eventos cardiacos y mortalidad cardiovascular entre pacientes

Los AGEs contribuyen al declive multisistémico que se produce con el envejecimiento, contribuyen a la inflamación y daño tisular a través la unión a AGER. AGEs entrecruzan el colágeno y otras proteínas y aumentan así la rigidez de los tejidos tales como las arterias principales, el corazón, los huesos y los músculos. Los estudios histopatológicos muestran que AGE y RAGE están asociados con las lesiones de la enfermedad de Alzheimer; la degeneración macular relacionada con la edad; aterosclerosis; glomerulosclerosis; y fibrosis intersticial en el riñón, osteoporosis y sarcopenia. (31)

Estudios en modelos animales sugieren que las altas exposiciones al AGE predisponen al desarrollo de resistencia a la insulina y diabetes, no existiendo evidencia si los altos niveles de AGE en circulación tienen un mayor riesgo de resistencia a la insulina, síndrome metabólico u otros problemas de salud en la vida posterior (31).

Los AGE se acumulan en el cerebro humano con el aumento de la edad y se encuentran en los ovillos neurofibrilares y en las placas seniles en pacientes con enfermedad de Alzheimer. En adultos mayores con enfermedad cerebrovascular, se encontró una CML elevada en neuronas corticales y vasos cerebrales y se relacionó con la gravedad del deterioro cognitivo. Los pacientes diabéticos están en mayor riesgo de desarrollar la enfermedad de Alzheimer, y una mayor deposición de AGEs y RAGE se encontró en los cerebros de pacientes diabéticos con enfermedad de Alzheimer (32).

Los AGEs contribuyen al declive multisistémico que se produce con el envejecimiento, contribuyen a la inflamación y daño tisular a través la unión a AGER. AGEs entrecruzan el colágeno y otras proteínas y aumentan así la rigidez de los tejidos tales como las arterias principales, el corazón, los huesos y los músculos. Los estudios histopatológicos muestran que AGE y RAGE están asociados con las lesiones de la enfermedad de Alzheimer; la degeneración macular relacionada con la edad; aterosclerosis; glomerulosclerosis; y fibrosis intersticial en el riñón, osteoporosis y sarcopenia (31).

## **ACE**

La enzima convertidora de angiotensina (ECA), es una dicarbopeptidasa, utiliza Zn<sup>2+</sup> y Cl<sup>-</sup> como cofactores. Es producida por varios tejidos corporales tan diversos como el SNC, riñones y

pulmón (31). La conversión se realiza por rotura de la angiotensina I en la zona (oligopéptido-|-Xaa-Yaa) en donde Xaa no es prolina y Yaa no es ni aspartato ni glutamato. Actúa sobre el sistema renina-angiotensina-aldosterona, regulador de la hemodinámica cardiovascular y los electrolitos en los líquidos corporales (31). La renina plasmática convierte el angiotensinógeno en angiotensina I, que no posee actividad fisiológica. Se encuentra soluble o en el endotelio de diferentes en órganos (corazón, pulmón, riñón, vasos sanguíneos, células de músculo liso) y en el plasma, la angiotensina I es convertida posteriormente en su forma activa que se ha dado a llamar angiotensina II, esta conversión es realizada por la enzima convertidora de angiotensina (ECA). (31) La angiotensina II juega un papel importante en la regulación de la presión sanguínea y una variedad de otros sistemas fisiológicos (34), es un potente agente vasoconstrictor lo que provoca que se eleve la resistencia vascular periférica y, por ende aumentar la tensión arterial, siendo también importante en la HTA. Actúa específicamente sobre las arteriolas, aunque tiene acción también sobre las vénulas. En las glándulas suprarrenales, la angiotensina II estimula la secreción de la hormona aldosterona, la cual a nivel renal produce reabsorción de sodio y agua, promueve la excreción de potasio lo que provoca aumento de la presión arterial. Posteriormente, la angiotensina II sufre una degradación a angiotensina III por acción de enzimas de nombre angiotensinasas (31). La ausencia total de una proteína no es necesariamente fisiológica y la complejidad en cascada de los efectos secundarios puede tener resultados oscuros, por ejemplo a falta de ACE conduce a la presión arterial baja. Con el fin de comprender el papel de la ACE en un tejido específico de moda, nuestro grupo prevé un ratón con expresión ACE limitada a determinados tipos de tejidos. Por lo tanto, en lugar de crear un animal que sólo carecía de ACE en un órgano, nuestra idea era crear un modelo de ratón en el que sólo el riñón o sólo el corazón expresaría esta proteína. Nuestra esperanza era que este enfoque permitiría una visión experimental única en el tejido papel específico del sistema renina-angiotensina. Para crear tal animal, hemos adoptado el enfoque de la manipulación del promotor. Este concepto se basa en la visión de un gen como compuesto de dos componentes esenciales, pero separados. Los exones de un gen contienen la información de codificación que conduce a la estructura de aminoácidos primaria. Por el contrario, la región promotora contiene las instrucciones sobre cuándo y dónde se fabricará la proteína (34).

Esta enzima necesaria en astrocitos para el mantenimiento funcional de la barrera hematoencefálica, que también se encuentra alterada en pacientes con EA. El nivel y actividad de ACE parece ser mayor en la EA, aunque in vitro tiene la capacidad de escindir A $\beta$ , in vivo no muestra esta actividad ya que luego de su inhibición los valores de A $\beta$  permanecen sin cambios. (35).

El gen ACE está asociado a EA y atrofia del hipocampo y la amígdala. Aunque se sabe que enzima convertidora de angiotensina (ECA) presenta un papel en la enfermedad de Alzheimer (EA) mediante la vía A $\beta$ , estudios del polimorfismo ACE I / D en EA son conflictivos (36). Además la ACE es parte del sistema renina-angiotensina que modula la homeostasis vascular. Personas que presentan una delección de una repetición de 287 pb en el intrón 16 de ACE (alelo D) tienen mayores niveles plasmáticos de ACE que aquellos con una inserción de esta repetición (I-alelo), asociándose el alelo- D con enfermedades cardiovasculares y la mortalidad (36). Este aumento del riesgo puede tener implicaciones para la EA, dado que en los cerebros con EA, el sistema renina-angiotensina local cerebral ejerce una función directa en el rendimiento de la memoria (36). La angiotensina II y angiotensina IV pueden excitar neuronas en el hipocampo y la amígdala, estructuras importantes para la memoria y la cognición. Además, puede disminuir los niveles de amiloide  $\beta$  promoviendo su degradación. (36) Los portadores del alelo I tendrían mayor riesgo de padecer EA, aunque implicaciones fisiopatológicas de esta asociación todavía no se comprenden completamente y que se necesitan estudios grandes para replicar este hallazgo. Se ha observado que individuos homocigotos para el I-alelo tienen mayor carga amiloide  $\beta$  42 cerebral, y que ACE tiene la capacidad de degradar  $\beta$  amiloide in vitro. Esto sugiere que el envejecimiento del cerebro puede beneficiarse de altos niveles de ACE, lo que reducirá la carga total de amiloide  $\beta$ . Sujetos con el genotipo II tienen los niveles más bajos de ACE en el plasma, lo que disminuye la capacidad de degradar  $\beta$  amiloide, que contribuiría a la acumulación de  $\beta$  amiloide visto en la EA, sumado a la participación de ACE en la formación de la angiotensina II y la angiotensina IV, que puede excitar las neuronas del hipocampo, su disminución contribuiría a la afectación memoria. (36).

#### **LPL:**

La lipoproteinlipasa (LPL) es una enzima que hidroliza a los triglicéridos (TG) de los quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad, y los descompone a ácidos grasos libres (AGL) y glicerol, liberándolos en músculo y tejido adiposo, funciona como "molécula puente" entre lipoproteínas y glucosaminoglucanos sulfatados (GAG) o receptores de lipoproteínas en los vasos sanguíneos (37).

Se encuentra generalmente en los vasos sanguíneos, en la superficie apical de las células endoteliales, en el corazón especialmente a nivel de las células intersticiales. Esta enzima actúa como transferasa de ésteres de colesterol a las células. Su deficiencia provoca hiperquilomicronemia dando lugar a la hiperlipoproteinemia. Está documentado también su relación con la aterosclerosis. (37)



Junto a la lipasa hepática (HL) y la lipasa endotelial (EL) constituyen una familia de lipasas implicadas en el metabolismo de las lipoproteínas. (37) Estas enzimas comparten una estructura de secuencia similar a nivel genético y proteico, pero se expresan en diferentes tejidos y actúan sobre diferentes sustratos de lipoproteínas. Las tres proteínas son lipasas de unión a heparina ancladas a la superficie endotelial y median la hidrólisis TG y fosfolípidos (FL) en la posición SN1 dentro de lipoproteínas circulantes. La hidrólisis de lípidos produce cambios estructurales dentro de las lipoproteínas que afecta su eliminación del plasma y libera AGL para ser absorbidos por los tejidos. Aunque las tres lipasas tienen actividad de lipasa TG y FL, LPL es predominantemente una lipasa TG, EL principalmente hidroliza PL y HL tiene una actividad intermedia TG y PL lipasa (38).

LPL es responsable de la hidrólisis de quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDLs), su actividad deficiente se ha asociado con hipertrigliceridemia grave con niveles bajos de colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL-C).

La HL participa en el metabolismo de las HDL y es responsable del metabolismo de las lipoproteínas que contienen apoB (especialmente IDL) y lipoproteínas de baja densidad (LDL) grandes, sus mayores concentraciones y actividad de la HL, se han asociado con un aumento en los niveles de LDL de densidad pequeña y menores niveles de HDL (38)

EL está principalmente involucrado en el metabolismo de HDL, sus concentraciones estarían correlacionadas con el nivel de adipocidad, el Índice de Masa corporal (IMC) y la circunferencia de la cintura. Concentraciones altas se asocian a niveles bajos de HDL, y es responsable de los bajos niveles de HDL-C en pacientes en hemodiálisis. (38) Se incrementa en individuos con mayor grado de obesidad y se asocia con niveles más bajos de HDL-C y apoA-I. (38) TNF- $\alpha$  puede estimular su concentración, pudiendo la adiposectina afectar indirectamente la EI mediante la inhibición de TNF- $\alpha$ . (38).

Varias comorbilidades como la diabetes, la obesidad y el síndrome metabólico (MS), combinación de aumento de la obesidad central, rRI, dislipidemia e HTA, (39) aumentan el riesgo de enfermedades cardiovasculares, en parte debido a los cambios en el perfil de las lipoproteínas, incluyendo niveles elevados de lipoproteínas ricas en TG, bajos niveles de HDL-C y aumento de los niveles de LDL densa y pequeña. (38). Además la mayor parte de la variación individual observada se debe a diferencias genéticas a través de interacciones complejas, y también implicado en sistemas de control de la ingesta de alimentos (39).

La LPL, se expresa en adipocitos y células musculares, juega un papel central en el metabolismo lipídico, cataliza la hidrólisis de triglicéridos en ácidos grasos libres (AGL) y aumenta la

captación celular de lipoproteínas de una manera no catalítica. El activador de la transcripción-3 STAT3 modula la síntesis de lípidos y modificar la expresión de los genes que regulan el metabolismo celular, se ha revelado que el promotor LPL alberga  $\gamma$ -interferón activación secuencia (GAS) para determinar si STAT3 activa la transcripción de LPL (39).

Este perfil, característico de los estados de resistencia a la insulina (IR), se atribuye principalmente a la obesidad abdominal; sin embargo, debe considerarse que el aumento en el índice de masa corporal no siempre refleja IR (39).

La baja concentración plasmática de colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL-C) es un factor de riesgo independiente para la cardiopatía isquémica y tiene causas multifactoriales complejas. La HDL tiene varias funciones: el transporte inverso del colesterol y las actividades antioxidantes, antiinflamatorias y antitrombogénicas. Se ha observado que una variante genética cerca de IRS1 se asocia con DMT2, resistencia a la insulina e hiperinsulinemia. La concentración plasmática de HDL-C puede contribuir independiente a la patogénesis de la DMT2. La aterosclerosis prematura se relaciona con varias actividades dependientes de HDL que incluyen una disminución de la capacidad de eflujo de colesterol celular por HDL (39). El receptor ABCA1 se considera un factor importante en el mantenimiento de la concentración plasmática de HDL-C y para el eflujo de colesterol celular esencial para prevenir la acumulación de lípidos en los islotes pancreáticos, su disfunción muestra deficiencia de secreción de insulina con o sin resistencia a la insulina. En DM no insulino dependientes las células beta pancreáticas pueden fallar para compensar la RI y el receptor de ABCA1, regula la homeostasis del colesterol y la secreción de insulina en estas células. HDL ejerce efectos sensibilizantes a la insulina, lo que mejora la eliminación de la glucosa en pacientes con DMT2 (39). Además, hay evidencia de que el cambio de peso e IR individualmente pueden afectar el perfil lipídico aterogénico del plasma. El comportamiento de la LPL y HL (como hidrolasas TG) han sido ampliamente estudiados en los estados de IR y la obesidad, la actividad de EL y NS, como fosfolipasas, nunca han sido evaluados en estas situaciones. El perfil alterado de la lipoproteína observado en pacientes con IR y durante la obesidad podría ser en parte una consecuencia de la lipólisis de las lipoproteínas en estos estados. Además, todavía existen controversias sobre la actividad de las lipasas SN-1 en diferentes grados de obesidad (37).

Se ha demostrado que ambas variantes HL y EL afectan al HDL-C mediante sus actividades fosfolipasas, principal responsable de su catabolismo. Una disminución significativa en la actividad plasmática de la LPL en los individuos con enfermedad metabólica. En pacientes diabéticos obesos la expresión y actividad de la LPL es menor con respecto a los individuos obesos sin diabetes (39).

Se ha observado una asociación significativa entre hs-CRP, marcador de inflamación crónica, y enzimas lipolíticas actividad. Diferentes estudios han mostrado resultados controvertidos de acuerdo con el efecto de la PCR sobre la expresión y la actividad de las enzimas. (39)

LPL también juega un papel en la unión de las partículas de lipoproteínas a las moléculas de la superficie celular, incluidos los glicosaminoglicanos sulfatados (GAG). (37)

Se ha demostrado que LPL en las placas seniles en los cerebros de EA, y sus mutaciones están asociadas con la gravedad de las características patofisiológicas (37). LPL se distribuye en numerosos órganos y en el cerebro predominantemente, aunque su actividad catabólica en el triacilglicerol se observa en el cerebro, la apolipoproteína CII (apoCII), cofactor esencial para LPL, no se expresa (37).

LPL se une a A $\beta$  y mejora la absorción celular de A $\beta$  de manera dependiente de glicosaminoglicano sulfatado, y el A $\beta$  internalizado se degrada en una vía lisosómica (37).

1. Kiehlbasa SM, Klein H, Roeder HG, Vingron M, Blüthgen N. TransFind-predicting transcriptional regulators for gene sets. *Nucleic Acids Res.* 2010;38(SUPPL. 2):275-80.
2. Tudorache IF, Trusca VG, Gafencu AV. Apolipoprotein E - A Multifunctional Protein with Implications in Various Pathologies as a Result of Its Structural Features. Vol. 15, *Computational and Structural Biotechnology Journal.* 2017. p. 359-65.
3. Huang YWA, Zhou B, Wernig M, Südhof TC. ApoE2, ApoE3, and ApoE4 Differentially Stimulate APP Transcription and A $\beta$  Secretion. *Cell.* 2017;168(3):427-441.e21.
4. Baranello RJ, Bharani KL, Padmaraju V, Chopra N, Lahiri DK, Greig NH, et al. Amyloid-Beta Protein Clearance and Degradation (ABCD) Pathways and their Role in Alzheimer's Disease. *Curr Alzheimer Res.* 2015;12:32-46.
5. Zhu L, Zhong M, Elder GA, Sano M, Holtzman DM, Gandy S, et al. Phospholipid dysregulation contributes to ApoE4-associated cognitive deficits in Alzheimer's disease pathogenesis. *Proc Natl Acad Sci [Internet].* 2015;112(38):11965-70. Disponible en: <http://www.pnas.org/lookup/doi/10.1073/pnas.1510011112>
6. Tai LM, Mehra S, Shete V, Estus S, Rebeck GW, Bu G, et al. Soluble apoE/A $\beta$  complex: mechanism and therapeutic target for APOE4-induced AD risk. *Mol Neurodegener [Internet].* 2014;9:2. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3897976&tool=pmcentrez&r>

endertype=abstract

7. Katusic ZS, Austin SA. Neurovascular Protective Function of Endothelial Nitric Oxide – Recent Advances –. *Circ J* [Internet]. 2016;80(7):1499-503. Disponible en: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/circj/80/7/80\\_CJ-16-0423/\\_article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/circj/80/7/80_CJ-16-0423/_article)
8. Zou M-H, Shi C, Cohen R a. Oxidation of the zinc- thiolate complex and uncoupling of endothelial nitric oxide synthase by peroxynitrite. Vol. 109, *The Journal of clinical investigation*. 2002. p. 817-26.
9. Sase K, Michel T. Expression of constitutive endothelial nitric oxide synthase in human blood platelets. *Life Sci* [Internet]. 1995;57(22):2049-55. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/002432059502191K>
10. Du XL, Edelstein D, Dimmeler S, Ju Q, Sui C, Brownlee M. Hyperglycemia inhibits endothelial nitric oxide synthase activity by posttranslational modification at the Akt site.[comment]. *J Clin Invest*. 2001;108(9):1341-8.
11. Gentile MT, Vecchione C, Maffei A, Aretini A, Marino G, Poulet R, et al. Mechanisms of soluble beta-amyloid impairment of endothelial function. *J Biol Chem* [Internet]. 2004;279(46):48135-42. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15319431>
12. Kalinowski L, Janaszak-Jasiecka A, Siekierzycka A, Bartoszewska S, Woźniak M, Lejnowski D, et al. Posttranscriptional and transcriptional regulation of endothelial nitric-oxide synthase during hypoxia: the role of microRNAs. *Cell Mol Biol Lett* [Internet]. 2016;21(1):16. Disponible en: <http://cmbl.biomedcentral.com/articles/10.1186/s11658-016-0017-x>
13. David JA, Rifkin WJ, Rabbani PS, Ceradini DJ. The Nrf2/Keap1/ARE Pathway and Oxidative Stress as a Therapeutic Target in Type II Diabetes Mellitus. *J Diabetes Res* [Internet]. 2017;2017:1-15. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/jdr/2017/4826724/>
14. Bamias G, Arseneau KO, Cominelli F. Cytokines and mucosal immunity. *Curr Opin Gastroenterol* [Internet]. 2014;30(6):547-52. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4234041&tool=pmcentrez&endertype=abstract>
15. McCoy MK, Tansey MG. TNF signaling inhibition in the CNS: implications for normal brain function and neurodegenerative disease. *J Neuroinflammation* [Internet].

- 2008;5(1):45. Disponible en:  
<http://jneuroinflammation.biomedcentral.com/articles/10.1186/1742-2094-5-45>
16. Sedger LM, McDermott MF. TNF and TNF-receptors: From mediators of cell death and inflammation to therapeutic giants - past, present and future. Vol. 25, Cytokine and Growth Factor Reviews. 2014. p. 453-72.
  17. Marin I, Kipnis J. Learning and memory ... and the immune system. Learn Mem [Internet]. 2013;20(10):601-6. Disponible en:  
<http://learnmem.cshlp.org/cgi/doi/10.1101/lm.028357.112>
  18. Harry GJ. Microglia during development and aging. Vol. 139, Pharmacology and Therapeutics. 2013. p. 313-26.
  19. Bond MR, Hanover JA. A little sugar goes a long way: The cell biology of O-GlcNAc. J Cell Biol. 2015;208(7):869-80.
  20. Gambetta MC, Müller J. A critical perspective of the diverse roles of O-GlcNAc transferase in chromatin. Vol. 124, Chromosoma. 2015. p. 429-42.
  21. Lewis BA, Hanover JA. O-GlcNAc and the epigenetic regulation of gene expression. Vol. 289, Journal of Biological Chemistry. 2014. p. 34440-8.
  22. Vaidyanathan K, Durning S, Wells L. Functional O-GlcNAc modifications: Implications in molecular regulation and pathophysiology. Crit Rev Biochem Mol Biol [Internet]. 2014;49(2):140-63. Disponible en:  
<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/10409238.2014.884535>
  23. Tundo GR, Sbardella D, Ciaccio C, Bianculli A, Orlandi A, Desimio MG, et al. Insulin-degrading enzyme (IDE): A novel heat shock-like protein. J Biol Chem. 2013;288(4):2281-9.
  24. Yfanti C, Mengele K, Gkazepis A, Weirich G, Giersig C, Kuo WL, et al. Expression of metalloprotease insulin-degrading enzyme insulysin in normal and malignant human tissues. Int J Mol Med. 2008;22(4):421-31.
  25. Wang S, Wang R, Chen L, Bennett DA, Dickson DW, Wang DS. Expression and functional profiling of neprilysin, insulin-degrading enzyme, and endothelin-converting enzyme in prospectively studied elderly and Alzheimer's brain. J Neurochem. 2010;115(1):47-57.
  26. Llovera RE, De Tullio M, Alonso LG, Leissring MA, Kaufman SB, Roher AE, et al. The

- catalytic domain of insulin-degrading enzyme forms a denaturant-resistant complex with amyloid  $\beta$  peptide: Implications for Alzheimer disease pathogenesis. *J Biol Chem.* 2008;283(25):17039-48.
27. McFall GP, Wiebe SA, Vergote D, Jhamandas J, Westaway D, Dixon RA. IDE (rs6583817) polymorphism and pulse pressure are independently and interactively associated with level and change in executive function in older adults. *Psychol Aging* [Internet]. 2014;29(2):418-30. Disponible en: <http://doi.apa.org/getdoi.cfm?doi=10.1037/a0034656>
  28. Cook DG, Leverenz JB, McMillan PJ, Kulstad JJ, Ericksen S, Roth R a., et al. Reduced Hippocampal Insulin-Degrading Enzyme in Late-Onset Alzheimer's Disease Is Associated with the Apolipoprotein E- $\epsilon$ 4 Allele. *Am J Pathol* [Internet]. 2003;162(1):313-9. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002944010638229%5Cnhttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1851126&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  29. Su F, Shu H, Ye Q, Wang Z, Xie C, Yuan B, et al. Brain insulin resistance deteriorates cognition by altering the topological features of brain networks. *NeuroImage Clin.* 2017;13:280-7.
  30. Yan SF, Ramasamy R, Schmidt AM. The receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) and cardiovascular disease. *Expert Rev Mol Med* [Internet]. 2009;11:e9. Disponible en: [http://www.journals.cambridge.org/abstract\\_S146239940900101X](http://www.journals.cambridge.org/abstract_S146239940900101X)
  31. Semba RD, Nicklett EJ, Ferrucci L. Does accumulation of advanced glycation end products contribute to the aging phenotype? *Journals Gerontol - Ser A Biol Sci Med Sci.* 2010;65 A(9):963-75.
  32. Huang M, Que Y, Shen X. Correlation of the plasma levels of soluble RAGE and endogenous secretory RAGE with oxidative stress in pre-diabetic patients. *J Diabetes Complications.* 2015;29(3):422-6.
  33. Daborg J, Von Otter M, Sjölander A, Nilsson S, Minthon L, Gustafson DR, et al. Association of the RAGE G82S polymorphism with Alzheimer's disease. *J Neural Transm.* 2010;117(7):861-7.
  34. Shen XZ, Xiao HD, Li P, Lin CX, Fuchs S, Bernstein KE. Tissue specific expression of angiotensin converting enzyme: A new way to study an old friend. *Int Immunopharmacol.*

2008;8(2):171-6.

35. Jun G, Ibrahim-Verbaas CA, Vronskaya M, Lambert J-C, Chung J, Naj AC, et al. A novel Alzheimer disease locus located near the gene encoding tau protein. *Mol Psychiatry* [Internet]. 2016;21(1):108-17. Disponible en: <http://www.nature.com/doi/10.1038/mp.2015.23>
36. Sleegers K, Den Heijer T, Van Dijk EJ, Hofman A, Bertoli-Avella AM, Koudstaal PJ, et al. ACE gene is associated with Alzheimer's disease and atrophy of hippocampus and amygdala. *Neurobiol Aging*. 2005;26(8):1153-9.
37. Nishitsuji K, Hosono T, Uchimura K, Michikawa M. Lipoprotein lipase is a novel amyloid  $\beta$  (A $\beta$ )-binding protein that promotes glycosaminoglycan-dependent cellular uptake of A $\beta$  in astrocytes. *J Biol Chem*. 2011;286(8):6393-401.
38. Miksztowicz V, Schreier L, McCoy M, Lucero D, Fassio E, Billheimer J, et al. Role of SN1 lipases on plasma lipids in metabolic syndrome and obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014;34(3):669-75.
39. Rozovski U, Grgurevic S, Bueso-Ramos C, Harris DM, Li P, Liu Z, et al. Aberrant LPL Expression, Driven by STAT3, Mediates Free Fatty Acid Metabolism in CLL Cells. *Mol Cancer Res* [Internet]. 2015;13(5):944-53. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4433415&tool=pmcentrez&endertype=abstract>

## Construcción de histogramas

1- En búsqueda del análisis de la distribución de los datos observados en el histograma, se realizó el método Kolmogorov Smirno. Este

es una prueba no paramétrica que permite comprobar que una variable se distribuye normalmente. Se ingresaron los datos de la página <https://www.easycalculation.com/statistics/kolmogorov-simirnov.php> La hipótesis nula en la que se trabajó es que Los datos analizados siguen una distribución normal mientras que la alternativa es que Los datos analizados no siguen una distribución normal.

Estadístico de contraste:

**Formula:**

$$D = \max_{1 \leq i \leq N} \left( F(Y_i) - \frac{i-1}{N}, \frac{i}{N} - F(Y_i) \right)$$

Donde:

D = Maximum Value of Normal Distribution

N = Number of Statistic Data,

F = Kolmogorov Smirnov (KS) Index.

El resultado de D calculado a través de la página fue 0.210277

El criterio para la toma de la decisión entre las dos hipótesis será de la forma: Si  $D \leq D_\alpha \Rightarrow$  Aceptar  $H_0$  Si  $D > D_\alpha \Rightarrow$  Rechazar  $H_0$  donde el valor  $D_\alpha$  se encuentra tabulado según el modelo y el n utilizado. El resultado de  $D_\alpha$  0.124. Rechazamos la

$H_0$ , por lo que no presenta una distribución normal.

Por lo tanto los datos no se agruparán de forma simétrica alrededor de una media.

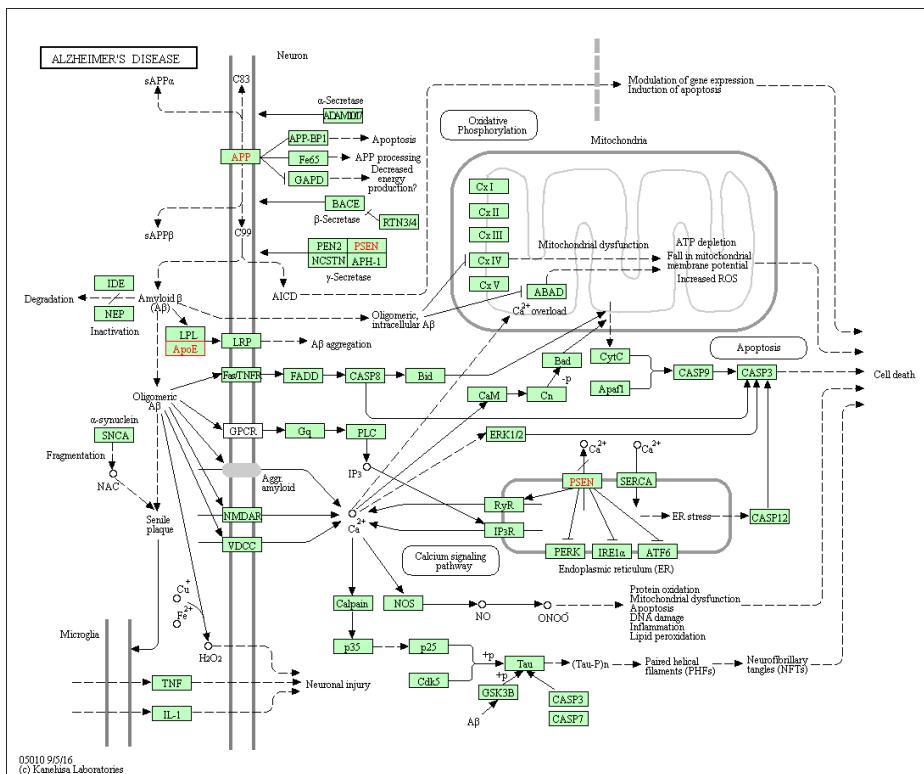
2-La distribución multinomial es una distribución discreta multivariante y, como su nombre indica, es una generalización de la distribución binomial cuando el experimento aleatorio considerado no tiene solo dos resultados posibles, éxito o fracaso, sino tres o más.



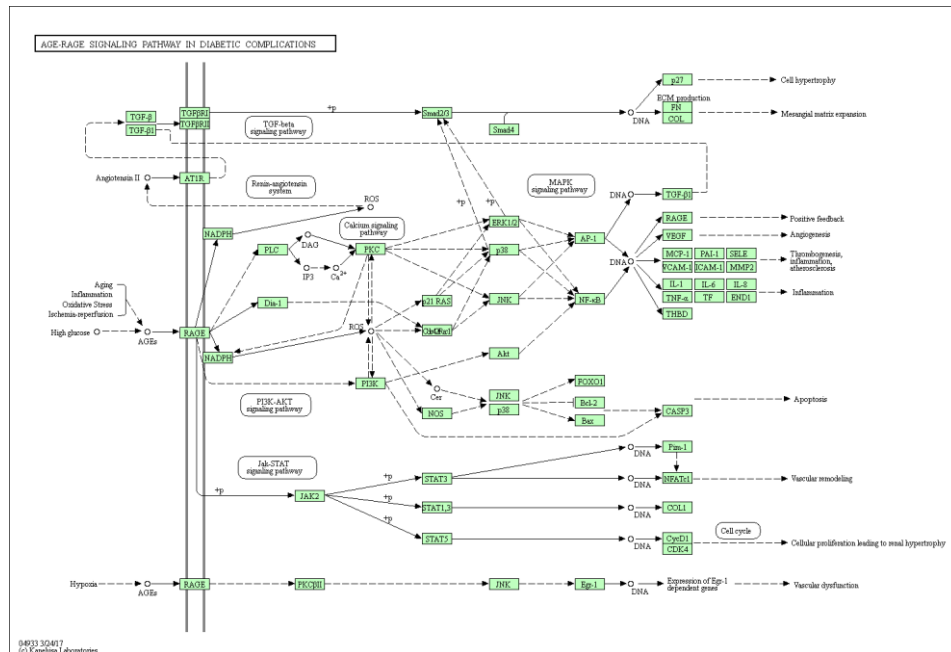


ricas en triglicéridos. Media la unión, la internalización y el catabolismo de las partículas de lipoproteínas. Puede servir como un ligando para el receptor de LDL (apo B / E) y para el receptor específico de apo-E (remanente de quilomicrones) de tejidos hepáticos.(2)

Hasta la fecha, los estudios genéticos han revelado cuatro genes que pueden estar ligados a un trastorno autosómico dominante o familiar temprano (FAD) de la Enfermedad de Alzheimer. Estos cuatro genes incluyen: proteína precursora amiloide (APP), presenilina 1 (PS1), presenilina 2 (PS2) y apolipoproteína E (ApoE). (3) La APOE se encuentra involucrada directamente en el proceso de acumulación de beta-amiloide. (4)



**AGER** codifica para un receptor multiligando, y además de AGE (Productos de glicación avanzada), interactúa con otras moléculas implicadas en la homeostasis, el desarrollo y la inflamación, así como en ciertas enfermedades, como la diabetes y la enfermedad de Alzheimer. Se han descrito muchas variantes de transcripción unidas alternativamente codificando diferentes



isoformas, así como variantes no codificantes (5). AGE representa proteínas no enzimáticamente glicosiladas que se acumulan en el tejido vascular en el envejecimiento y la diabetes. Actúa como un mediador de la inflamación vascular aguda y crónica en condiciones tales como la aterosclerosis y en particular como una complicación de la diabetes. La unión AGE / RAGE juega un papel importante en la regulación de la producción / expresión de TNF-alfa, estrés oxidativo, y la disfunción endotelial en la diabetes tipo 2.

La interacción con S100A12 sobre el endotelio, los fagocitos mononucleares y los linfocitos desencadena la activación celular, con la generación de mediadores proinflamatorios. Contribuye a la translocación del péptido beta amiloide (AβP) a través de la membrana celular desde el espacio extracelular al intracelular en las neuronas corticales. La señalización RAGE iniciada por AβP, especialmente la estimulación de la proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK) p38, tiene la capacidad de conducir un sistema de transporte que proporciona AβP como un complejo con RAGE al espacio intraneuronal (6)(7).

La principal vía inflamatoria estimulada por la activación de AGER es NFkappaB. Aunque la cascada de señalización no está clara, varios datos experimentales sugieren que la activación de AGER conduce a la activación sostenida y regulación positiva de NFkappaB, medida como la translocación de NFkappaB al núcleo y niveles aumentados de NFkappaB sintetizado de novo (6).



**IDE** codifica una metalopeptidasa de zinc que degrada la insulina intracelular, y por lo tanto termina la actividad de las insulinas; también, participa en la señalización intercelular degradando diversos péptidos, tales como glucagón, amilina, bradiquinina y calidina (10). La afinidad preferente de esta enzima por la insulina da lugar a la inhibición mediada por insulina de la degradación de otros péptidos tales como beta-amiloide. Las deficiencias en la función de esta proteína están asociadas con la enfermedad de Alzheimer y la diabetes mellitus tipo 2, pero las mutaciones en este gen no han demostrado ser causante de estas enfermedades (11).

**TNF** codifica una citocina proinflamatoria multifuncional que pertenece a la superfamilia del factor de necrosis tumoral (TNF). Esta citoquina es secretada principalmente por los macrófagos. Puede unirse a, y por lo tanto funciona a través de sus receptores TNFRSF1A / TNFR1 y TNFRSF1B / TNFR2. Está implicada en la regulación de un amplio espectro de procesos biológicos que incluyen proliferación celular, diferenciación, apoptosis, metabolismo lipídico y coagulación (12).

El factor de necrosis tumoral (TNF), como citoquina crítica, puede inducir una amplia gama de vías de señales intracelulares, incluyendo la apoptosis y la supervivencia celular, así como la inflamación y la inmunidad. La vía del TNFR1 induce la activación de muchos genes, controlados principalmente por dos vías distintas, NF-kappa B vía y el MAPK cascada, o apoptosis y necroptosis. La vía del TNFR2 activa a la vía de NF-kappa B incluyendo las PI3K-dependientes y JNK, que conduce a la supervivencia (13).

**ACE** codifica una enzima implicada en la catalización de la conversión de la angiotensina I en un péptido fisiológicamente activo angiotensina II. La angiotensina II es un potente vasopresor y péptido estimulante de aldosterona que controla la presión sanguínea y el equilibrio líquido-electrolito. Esta enzima juega un papel clave en el sistema renina-angiotensina. Muchos estudios han asociado la presencia o ausencia de un elemento de repetición Alu de 287 pb en este gen con los niveles de enzimas circulantes o patologías cardiovasculares (14).

**LPL** codifica la lipoproteína lipasa, que se expresa en el corazón, el músculo y el tejido adiposo. La función primaria de esta lipasa es la hidrólisis de triglicéridos de quilomicrones circulantes y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (15). La unión a los proteoglicanos de sulfato de heparina en la superficie celular es vital para la función. La apolipoproteína, APOC2, actúa como coactivador de la actividad LPL en presencia de lípidos en la superficie luminal del endotelio vascular (16).

## Bibliografía

1. Martins AR, Nachbar RT, Gorjao R, Vinolo MA, Festuccia WT, Lambertucci RH, et al. Mechanisms underlying skeletal muscle insulin resistance induced by fatty acids: importance of the mitochondrial function. *Lipids Health Dis* [Internet]. 2012;11(1):30. Recuperado a partir de: <http://lipidworld.biomedcentral.com/articles/10.1186/1476-511X-11-30>
2. Bezprozvanny I, Mattson MP. Neuronal calcium mishandling and the pathogenesis of Alzheimer's disease. Vol. 31, *Trends in Neurosciences*. 2008. p. 454-63.
3. Katayama T, Imaizumi K, Manabe T, Hitomi J, Kudo T, Tohyama M. Induction of neuronal death by ER stress in Alzheimer's disease. Vol. 28, *Journal of Chemical Neuroanatomy*. 2004. p. 67-78.
4. Small DH, Mok SS, Bornstein JC. Alzheimer's disease and Abeta toxicity: from top to bottom. *Nat Rev Neurosci* [Internet]. 2001;2(8):595-8. Recuperado a partir de: <http://dx.doi.org/10.1038/35086072>
5. Hudson BI, Carter AM, Harja E, Kalea AZ, Arriero M, Yang H, et al. Identification, classification, and expression of RAGE gene splice variants. *FASEB J* [Internet]. 2007;22(5):1572-80. Recuperado a partir de: <http://www.fasebj.org/cgi/doi/10.1096/fj.07-9909com>
6. Fang F, Lue L-F, Yan S, Xu H, Luddy JS, Chen D, et al. RAGE-dependent signaling in microglia contributes to neuroinflammation, Abeta accumulation, and impaired learning/memory in a mouse model of Alzheimer's disease. *FASEB J*. 2010;24(4):1043-55.
7. Jin Q, Chen H, Luo A, Ding F, Liu Z. S100A14 stimulates cell proliferation and induces cell apoptosis at different concentrations via receptor for advanced glycation end products (RAGE). *PLoS One*. 2011;6(4).
8. Sase K, Michel T. Expression of constitutive endothelial nitric oxide synthase in human blood platelets. *Life Sci* [Internet]. 1995;57(22):2049-55. Recuperado a partir de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/002432059502191K>
9. Song G, Ouyang G, Bao S. The activation of Akt/PKB signaling pathway and cell survival. *J Cell Mol Med* [Internet]. 2005;9(1):59-71. Recuperado a partir de: <http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1111/j.1582-4934.2005.tb00337.x/asset/j.1582->

4934.2005.tb00337.x.pdf?v=1&t=hrc9mh7a&s=b3fb5dd0b295bbc43afa3590251511ec6694250d

10. Im H, Manolopoulou M, Malito E, Shen Y, Zhao J, Neant-Fery M, et al. Structure of substrate-free human insulin-degrading enzyme (IDE) and biophysical analysis of ATP-induced conformational switch of IDE. *J Biol Chem.* 2007;282(35):25453-63.
11. Vekrellis K, Ye Z, Qiu WQ, Walsh D, Hartley D, Chesneau V, et al. Neurons regulate extracellular levels of amyloid beta-protein via proteolysis by insulin-degrading enzyme. *J Neurosci.* 2000;20(5):1657-65.
12. Steed PM. Inactivation of TNF Signaling by Rationally Designed Dominant-Negative TNF Variants. *Science (80- )* [Internet]. 2003;301(5641):1895-8. Recuperado a partir de: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1081297>
13. Pomerantz JL, Baltimore D. NF-kappaB activation by a signaling complex containing TRAF2, TANK and TBK1, a novel IKK-related kinase. *EMBO J* [Internet]. 1999;18(23):6694-704. Recuperado a partir de: <http://emboj.embopress.org/content/18/23/6694.abstract>
14. Nguyen Dinh Cat A, Touyz RM. A new look at the renin-angiotensin system - Focusing on the vascular system. Vol. 32, *Peptides.* 2011. p. 2141-50.
15. Pingitore P, Lepore SM, Pirazzi C, Mancina RM, Motta BM, Valenti L, et al. Identification and characterization of two novel mutations in the LPL gene causing type I hyperlipoproteinemia. *J Clin Lipidol.* 2016;10(4):816-23.
16. Lutz EP, Merkel M, Kako Y, Melford K, Radner H, Breslow JL, et al. Heparin-binding defective lipoprotein lipase is unstable and causes abnormalities in lipid delivery to tissues. *J Clin Invest.* 2001;107(9):1183-92.

### Construcción de la tabla para determinar pesos de los nodos

El score ofrecido por Malacards se construye usando el motor de búsqueda Solr (4) que devuelve la cifra correspondiente al número de veces que un gen aparece relacionado en artículos científicos con una enfermedad en particular.

Nuestra tabla en MSE otorga un valor de peso diferente a cada gen en relación inversa a su lugar en el ranking de la correspondiente enfermedad, de acuerdo con la siguiente fórmula: siendo

Donde  $x$  Peso del enlace = posición inversa de  $\chi \times k$  es la  $K = 1 \div y$

posición del score de los genes,  $k$  una constante e  $y$  representa el número total de genes considerados para esa enfermedad.

### Tabla de Frecuencias - coincidencias génicas entre EA, DMT2 y otras enfermedades neurodegenerativas y metabólicas

Enfermedades	EA		DMT2	
	<i>Fabs</i>	<i>frel</i>	<i>fabs</i>	<i>frel</i>
Dmt2 (164 genes)	8	0.044	164	1
Hipertensión (273 genes)	3	0.011	22	0.080
F.Crec.Insulínico T1 (225 genes)	1	0.005	17	0.080
Hipertrigliceridemia (211 genes)	2	0.010	16	0.080
Obesidad (370 genes)	1	0.045	78	0.220
Diabets Mellitus T1 (313 genes)	8	0.026	60	0.206
Aterosclerosis (233 genes)	7	0.031	23	0.107
Síndrome Metabólico (233 genes)	1	0.005	26	0.121
E. Alzhéimer (182 genes)	182	1.000	8	0.049
Enf. De Cuerpos de Lewy (191genes)	14	0.067	1	0.005
Enf. de Huntington (254 genes)	15	0.061	9	0.031
Ataxia de Friedreich (205 genes)	0	0.000	1	0.000
Esclerosis Lat. Amiotrófica (344 genes)	25	0.075	15	0.010
Atrofia Muscular Espinal (223 genes)	0	0.000	1	0.000
Enf. De Parkinson (314 genes)	28	0.092	25	0.015



**Tabla de promedios de las Frecuencias absoluta y relativa de coincidencias génicas entre EA, DMT2 y otras enfermedades neurodegenerativas y metabólicas**

	Enfermedades.Metabolicas		Enfermedades Neuroendocrinas	
	<i>fabs</i>	<i>frel.</i>	<i>fas</i>	<i>frel.</i>
EA	3	0.02	14	0.05
<b>DMT2</b>	35	0.13	9	0.01

**Tabla factores de transcripción más relevantes según Genecards® para cada uno de los 8 genes.**

AGER	APOE	NOS3	IDE	OGT	TNF	ACE	LPL
NF-kappaB	PPAR-gamma1	Sp1	GR	Sp1	NF-kappaB	AP-1	PPAR-gamma1
NF-kappaB1	PPAR-gamma2	AP-1	GR-alpha	NF-kappaB	NF-kappaB1	c-Jun	PPAR-gamma2
STAT1	PPAR-alpha	c-Jun		NF-kappaB1	GR	Egr-1	PPAR-alpha
STAT1alpha	AP-1	STAT3		SRF	GR-alpha	Sp1	STAT1
STAT1beta	c-Jun	FOXO1a		SRF (504 AA)	GR-BETA	PPAR-alpha	STAT1alpha
ER-alpha	Sp1	FOXO1		c-Jun	Egr-1	ER-alpha	STAT1beta
STAT3	C/EBPalpha	NF-kappaB		AP-1	RORalpha1	NF-kappaB	FOXO1a
	NF-kappaB	NF-kappaB1		USF2	RORalpha2	NF-kappaB1	FOXO1
	NF-kappaB1	PPAR-gamma1		STATA5A	AhR	Brachyury	GR
	ER-alpha	PPAR-gamma2		CUTL1	NF-AT	Max1	GR-alpha