

Artículo Original

Evaluación piloto de la reducción de niveles séricos de productos de glicación avanzada (AGEs) sobre la electrofisiología de la visión, en pacientes con diabetes mellitus tipo 2

M. Pía de la Maza C.^{1,2}, Cecilia Algarin C.^{1,3} y Juan Manuel Rodríguez S.¹

Pilot evaluation of the serum levels reduction of advanced glycation products (AGEs) on the vision electrophysiology in type 2 diabetic patients

¹Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile.

²Clínica Alemana de Santiago.

³Fundación Oftalmológica Los Andes.

Financiamiento: Concurso investigación SOCHED

Correspondencia:

M. Pía de la Maza C.
El Líbano 5524, Macul, Región Metropolitana.
mpmaza@inta.uchile.cl

Recibido: 12-11-2017

Aceptado: 22-11-2017

Background: Diabetic vascular complications are associated with elevated concentrations of advanced glycation end-products (AGEs). These substances can be originated endogenously by hyperglycaemia and oxidative stress, but also by dietary intake. There is indirect evidence suggesting that these complications can be prevented by lowering AGEs levels by dietary or pharmacological interventions, however its clinical benefits are still not clear enough because this would require long periods of treatment. Specific neuro-ophthalmologic tests like Multifocal Electroretinogram (MFERG) and visual evoked potentials (VEP) can detect retinal and myelinic nerve early changes, and thus could represent good methods to study the results of certain interventions in shorter lapses. The aim of this preliminary study was to evaluate the effects of a pharmacological intervention designed to lower AGEs levels, on these variables. **Patients and Methods:** We included 7 patients with type 2 diabetes (DM2), with more than 5 and less than 10 years of disease, without clinically evident micro and macrovascular disease, without renal failure, hypothyroidism nor vitamin B12 deficiency, whose AGEs dietary intake was moderately elevated or high (according to dietary recalls). Upon admission, a clinical evaluation, urine and blood samples were obtained for routine labs, plus ultrasensitive C Reactive Protein (usCRP) as an inflammatory marker, and carboxymethyl-lysine (CML) as representative of AGEs. Then a complete ophthalmologic evaluation was performed, including fundus, MFERG and VEP. After the initial evaluation, placebo capsules were prescribed (12 daily capsules, 4 with each main meal) during 3 months, repeating the same initial evaluation at completion of this period. Then the active treatment followed, with capsules containing cholestyramine (4 capsules containing 500 mg each, totaling 6 g per day). Patients were cited each month, to register adverse events and repeating the same evaluation after this second 3 months period. **Results:** The sample was composed of 2 male patients, mean age was 55.1 ± 3.8 years, and diabetes was managed with metformin plus other oral agents or o insulin (4 cases). In addition, 4 patients received lipid lowering and 4 antihypertensive drugs. Metabolic control and lipid levels were variable (ranges of HbA1c 6.2-8.4%, LDL cholesterol 45-141 mg/dL, triglycerides 70-220 mg/dL). AGEs levels represented by CML were highly variable (median 31.7, range min-max 3.4-58.9 ug/uL). Basal usCRP was also variable (median 405.9, range min-max 265.6-490.7 mg/L). The treatment was well tolerated, except for mild constipation associated with cholestyramine intake. No significant changes in electroretinography or evoked potentials were observed when comparing the initial placebo period with cholestyramine treatment. A significant increase in triglyceride levels and decrease of vitamin D levels after cholestyramine treatment was observed. No changes were detected in serum concentrations of CML, usCRP or glycemic control, after treatment. The latter variables were not correlated with neuroophthalmologic studies. **Discussion:** In this preliminary study we did not observe changes in MFERG nor VEP after 6 g/day cholestyramine treatment, which did not induce lowering of CML levels. This could be attributed to the many limitations of a pilot study, such as a small sample size, short duration of treatment, reduced doses. However this design allowed to evaluate the patients' tolerance to the drug and rule out adverse effects, in order to plan further studies using the necessary doses to obtain lowering of AGEs.

Key words: AGE, glycation, bile acid sequestrant, electroretinogram, cholestyramine.

Introducción

Entre los mecanismos postulados para explicar las complicaciones micro y macro vasculares de la diabetes mellitus se menciona la acumulación de productos de glicación avanzada (AGEs) en proteínas de larga vida¹⁻³. La vía de los AGEs es considerada como la más importante en la génesis y progresión de la microangiopatía diabética², así como también explica el alto riesgo cardiovascular, atribuyéndose un rol fundamental en la “memoria metabólica”⁴. Estas moléculas son generadas a través de la reacción de Maillard, asociado al mayor estrés oxidativo. Existen múltiples moléculas derivadas de este proceso de glicoxidación, llamadas genéricamente AGEs⁵, que se elevan significativamente en la circulación y tejidos en los pacientes con DM, afectando principalmente las células endoteliales² y al colágeno⁶. Sin embargo, los niveles de AGEs detectados en diabéticos dependen críticamente del método de detección y de la función renal de los pacientes⁷. Aparte del mecanismo vascular, los AGEs pudieran provocar efectos desmielinizantes directos o inflamatorios neurales directos^{1,8}.

Este fenómeno de glicoxidación no deriva exclusivamente de fuentes endógenas (DM), sino que también puede derivar del tabaquismo y del consumo dietario de AGEs. Alrededor del 10% de los AGEs dietarios son absorbidos y de éstos 2/3 son retenidos en los tejidos, así los niveles séricos de AGEs resultan del balance entre su absorción intestinal, formación en proteínas circulantes, turnover tisular y excreción renal⁹. Esto explica que en la insuficiencia renal, independiente de su etiología, se acumulen AGEs en los tejidos, acelerando el daño⁶.

Los AGEs son conocidos desde hace mucho tiempo por los tecnólogos en alimentos, quienes los aprovechan para dar sabor, color y apariencia a los productos alimentarios, y que ingeridos en cantidades moderadas no causan problemas. Sin embargo, Vlassara y cols han demostrado la importancia que tienen las fuentes dietarias de AGEs, tanto en las complicaciones de la DM como en el envejecimiento y otras patologías crónicas¹⁰. Sus estudios en animales señalan que dietas con alto contenido de AGEs elevan los niveles circulantes y se asocian a aterosclerosis¹¹ y enfermedad renal, que pueden prevenirse con restricción de la ingesta dietaria de AGEs¹².

Los AGEs ejercen su acción uniéndose a un receptor de superficie RAGE (receptor de AGEs), el cual activa una cascada de señalización intracelular que aumenta el estrés oxidativo y la producción de citocinas proinflamatorias a nivel celular¹³. En cambio, la forma soluble de RAGE inhibe competitivamente la unión del ligando al receptor, ejerciendo potencialmente un efecto antiaterogénico¹⁴. Además, se ha descrito otro receptor, el AGER1, que participa en la detoxificación de AGEs¹⁵,

pero su expresión y función disminuye en condiciones de estrés oxidativo, como la DM y el envejecimiento. En cambio la restricción de AGEs dietarios, lograda modificando solamente la humedad, temperatura y tiempo de cocción de éstos¹⁶, revierte la mayor parte de los efectos deletéreos mencionados¹⁷⁻¹⁹. Aparte de la restricción dietaria, en pacientes con DM2 se ha logrado reducir la carga de AGEs, mejorar el control glicémico y reducir inflamación utilizando Sevelamer, un quelante de fosfato utilizado habitualmente en pacientes con insuficiencia renal crónica²⁰. A pesar del escepticismo inicial, estudios recientes comprueban que la reducción de la carga de AGEs tiene efectos beneficiosos en pacientes diabéticos y en diversas otras condiciones²¹⁻²⁸. Sin embargo, el tema de cuáles AGEs son los más dañinos y la falta de metodología estandarizada para su determinación y que la mayor parte de los estudios provenga del mismo grupo provoca aun gran controversia²². Estudios preliminares de nuestro grupo demostraron elevada ingesta dietaria de AGEs entre sujetos < 50 años, sanos o diabéticos²³ y reducción de niveles de carboximetil lisina (CML), el AGE más representativo, a través de dieta hipocalórica mediterránea²⁴.

A pesar de que los resultados antes mencionados son promisorios, el impacto clínico de la reducción de niveles de AGEs en pacientes con DM sería esperable a largo plazo, con lo cual se hace más difícil establecer una relación causal con la disminución de AGEs a través de dieta o fármacos. Más aun, la adherencia a prescripciones dietarias y medicamentos es limitada, especialmente en patologías crónicas. La electroretinografía multifocal (ERGFM) es un método que provee una ventana única para evaluar tanto la salud neural como la vascular, pudiendo mostrar alteraciones tempranas en patologías que afectan las diferentes capas de la retina y que se asocian con ruptura de la barrera retino-capilar, además de disfunciones centrales (maculares) o de regiones específicas. Los cambios del ERGMF anteceden los cambios morfológicos y síntomas clínicos²⁵ y responde precozmente a cambios en el estrés oxidativo²⁶ y control glicémico en DM1²⁷. De igual forma, la velocidad de conducción nerviosa puede responder rápidamente a intervenciones que influyan sobre la desmielinización, como la suplementación con vitamina B12²⁸, por lo tanto, en pacientes diabéticos es teóricamente posible detectar cambios precoces en parámetros de neuroconducción o ERGMF, como respuesta a cambios en el control metabólico o reducción de los niveles de AGEs, en la etapa previa al daño neural irreversible. Así, el objetivo del presente estudio, fue evaluar en forma preliminar, sin doble ciego, la asociación entre reducción de niveles séricos de CML utilizando colestiramina (un quelante de sales biliares con efecto hipolipemiente e hipoglicemiente demostrado) con cambios electrofisiológicos de la retina, en adultos con DM2.

Artículo Original

Pacientes y Métodos

En esta evaluación piloto se estudiaron pacientes adultos con DM2, controlados en Clínica Alemana de Santiago o en el Consultorio Félix de Amesti de la comuna de Macul en Santiago, con más de 5 y menos de 10 años de enfermedad, en tratamiento con hipoglicemiantes orales o insulina, que aceptaron participar en el estudio firmando un consentimiento informado. Como requisitos para el estudio debían tener una dieta mixta con ingesta habitual moderada o elevada de AGEs según encuesta alimentaria adaptada de Uribarri¹⁵. Se excluyeron los pacientes con $IMC \geq 40$ k/m^2 , $HbA1c > 9\%$, anemia, glicemia en ayunas > 250 mg/dL o antecedentes de complicación aguda hiperglicémica o cardiovascular en los últimos 2 años, dislipidemia severa para pacientes diabéticos ($LDL > 130$, $TG > 350$ mg/dL), deficiencia de vitamina B12 e insuficiencia de órganos, especialmente insuficiencia renal, (creatinina $> 1,5$ mg/dL o, clearance de creatinina calculado < 60 m/min). También se excluyeron los pacientes con neuropatía diabética diagnosticada clínicamente o con exámenes especializados y aquellos con patología oftalmológica que dificultase la realización del electroretinograma, tales como vicios de refracción no corregidos adecuadamente, cataratas y retinopatía diabética proliferativa o edema macular.

Al ingreso se efectuó una historia clínica con registro de medicamentos y una encuesta alimentaria que consignara específicamente los métodos de preparación de alimentos y alimentos específicos ricos en AGEs de acuerdo a mediciones efectuadas en alimentos chilenos y adaptando las encuestas de Uribarri y cols¹⁵, calificando la ingesta de AGEs como baja (< 10 $kU/día$), moderada (10-15 $kU/día$) o alta (> 15 $kU/día$), excluyendo a los pacientes con ingesta baja. En los sujetos preseleccionados de acuerdo a la encuesta e historia clínica, se efectuó antropometría (peso, talla, perímetro de cintura) y se tomó muestras de sangre en ayunas para exámenes de laboratorio clínico habitual (hemoglobina, TSH, glicemia, hemoglobina glicosilada, creatinina, protrombina, perfil lipídico y niveles séricos de vitamina B12), utilizando técnicas automatizadas de laboratorio clínico. Parte de esta sangre fue centrifugada y congelada para posterior determinación de vitamina D y PCR ultrasensible como marcador inflamatorio con kits comerciales, además de la concentración de AGEs en suero (CML a través de ELISA con anticuerpo Abcam 309017). También se obtuvo una muestra de segunda orina de la mañana para determinación de microalbuminuria (MAU/creatininuria) al inicio y al final del estudio.

Los sujetos seleccionados fueron sometidos a la evaluación oftalmológica que incluyó fondo de ojo, potenciales evocados visuales y electroretinograma multifocal en

la Fundación Oftalmológica Los Andes.

Completada la evaluación inicial, se inició un período de 12 semanas de ingesta de cápsulas de placebo (4 cápsulas 3 veces/día). Los sujetos fueron controlados mensualmente por médico y/o nutricionista para reforzar las medidas alimentarias tradicionales para mejorar el control glicémico (restricción del aporte calórico de acuerdo a la composición corporal, disminuir la ingesta de hidratos de carbono simples y aumentar el consumo de fibra soluble e insoluble para reducir la carga glicémica de los alimentos), de acuerdo a las normas para manejo de diabetes del Ministerio de Salud, pero sin intervenir sobre el consumo de AGEs. En caso necesario cada médico tratante ajustó la terapia hipoglicemiente o insulínica, con el objetivo de lograr metas de control metabólico adecuadas ($HbA1c \leq 7\%$). Finalizado este período de 3 meses se obtuvieron nuevas muestras de sangre, además de repetir los exámenes oftalmológicos específicos.

Posteriormente, se inició el tratamiento farmacológico con cápsulas de colestiramina (4 comprimidos de 500 mg cada uno de colestiramina en cada comida principal, es decir, 6 g/día), durante 12 semanas, teniendo especial precaución de no ingerirlas simultáneamente con los demás medicamentos y registrando cuidadosamente eventuales eventos adversos. Al completar 3 meses de tratamiento se repitieron los exámenes de sangre y orina además del estudio neuro-oftalmológico.

Los datos fueron analizados a través del programa estadístico Stata 13.0. Primero se analizó la distribución de las variables, se analizó la asociación entre éstas a través de test de correlación de Pearson. Posteriormente, se analizó los cambios en las variables con 2 métodos: comparando el % de cambio basal-placebo *versus* basal colestiramina con test de Wilcoxon y, además, comparando los 2 valores “basales” (es decir, basal y postperíodo placebo) con el valor obtenido post colestiramina utilizando t pareado.

Resultados

Luego del período de preselección, la muestra final estuvo constituida por 7 pacientes portadores de DM2, que cumplían con los criterios de inclusión (2 de sexo masculino). La edad promedio era $55,1 \pm 3,8$ años, con duración de la enfermedad entre 5 y 10 años. Al ingresar al estudio, todos los pacientes eran manejados con hipoglicemiantes orales (metformina 7 casos, sulfonilureas 2 casos, inhibidores DPP4 1 caso e ISGLT2 1 caso), insulina en diversos esquemas en 4 pacientes, además de hipolipemiantes e hipotensores en 4 casos cada uno.

En la Tabla 1 se muestran las variables clínicas y bioquímicas al ingreso al estudio, destacando el amplio ran-

Tabla 1. Variables clínicas y de laboratorio iniciales

Variable	Promedio ± DS	Mediana (min-max)
Talla (mts)	164,1 ± 11,6	158 (151,4-182)
Peso (kg)	79,8 ± 18,6	78,6 (53-112)
Índice de masa corporal (kg/mt ²)	29,5 ± 5,7	91 (23,1-38,5)
Presión arterial sistólica (mmHg)	128,3 ± 21,7	130 (100-155)
Presión arterial diastólica (mmHg)	75,3 ± 7,1	77 (64-83)
Glicemia capilar ayunas (mg/dL)	151,7 ± 63,1	134 (89-287)
Hemoglobina glicosilada (%)	7,2 ± 0,8	7,1 (6,2-8,4)
Hormona tiroestimulante (uU/mL)	3,2 ± 1,3	3,2 (1,8-5)
Colesterol total (mg/dL)	164,6 ± 27,8	161 (141-223)
Colesterol HDL (mg/dL)	51,6 ± 15,5	46 (37-80)
Colesterol LDL (mg/dL)	92,7 ± 31,1	81 (45-141)
Triglicéridos (mg/dL)	132 ± 60,5	99 (70-220)
Creatinina (mg/dL)	0,79 ± 0,2	0,72 (0,52-1,17)
Albúmina/creatinina orina (mg/g)	19,0 ± 23,6	6,5 (2,5-71)
Vitamina B12 (pg/mL)	686,2 ± 519,2	529,8 (241-1.857)
Vitamina D (ng/mL)	26,3 ± 5,4	23,9 (19,9-36,4)
Proteína C reactiva ultrasensible (mg/L)	29,7 ± 20,9	31,7 (3,4-58,9)
Carboximetilisina (ug/uL)	380,3 ± 76,3	405,9 (265,6-490,7)

Distribución no paramétrica de las variables glicemia, vitamina B12, colesterol total, colesterol HDL, triglicéridos y microalbuminuria.

go de distribución de la mayor parte de éstas. En cuanto a microangiopatía, una paciente tenía microalbuminuria al inicio y se detectó retinopatía (leve) al fondo de ojo en otro paciente. Según la encuesta, el consumo dietario de AGEs era variable, con una mediana de 12,4 (10,2 a 24,9) kU/día.

En cuanto a las variables electroretinográficas y velocidad de conducción nerviosa evaluada a través de potenciales evocados visuales, se consideró cada ojo como un individuo. El OD de un paciente no fue estudiado inicialmente debido al antecedente de una trombosis retinal antigua y en algunos casos el examen no se pudo efectuar por diferentes razones. Finalmente, se contó con entre 9 y 13 ojos para analizar, dependiendo del procedimiento. En la Tabla 2 se presentan los datos de ERGMF (densidad y latencia de las señales según su distancia de la mácula, desde el anillo 1 (más cercano) al anillo 5 (más lejano) obtenidos al inicio. En la Tabla 3 se presentan los valores de los potenciales evocados visuales, que incluyen amplitud y latencia de las ondas p75 y p100 a 1 y 2 grados. Prácticamente todos los valores se encontraron dentro de rangos de normalidad (los valores controles se muestran al pie de cada tabla).

Las Tablas 4 y 5 muestran los cambios luego de 3 meses de placebo comparados con 3 meses de tratamiento con colestiramina, expresados como % de cambio con respecto al basal. Se muestran los valores de densidad y

Tabla 2. Valores de electroretinografía multifocal al inicio del estudio

	Densidad anillo 1 (μ V/grados) n = 9	Densidad anillo 2 (μ V/grados) n = 9	Densidad anillo 3 (μ V/grados) n = 9	Densidad anillo 4 (μ V/grados) n = 9	Densidad anillo 5 (μ V/grados) n = 9
Promedio ± DS	131,4 ± 28,2	82,8 ± 11,6	55,1 ± 6,3	40,2 ± 4,2	33,9 ± 3,3
Mediana (rango)	124,7 (95,6 – 168,3)	83,0 (65,6 – 98,1)	55,5 (47,4 – 67,3)	38,4 (36 – 47,9)	33,5 (30,2 – 41,5)
	Latencia anillo 1 (ms)	Latencia anillo 2 (ms)	Latencia anillo 3 (ms)	Latencia anillo 4 (ms)	Latencia anillo 5 (ms)
Promedio ± DS	41,6 ± 1,3	38,2 ± 1,1	37,5 ± 0,6	37,7 ± 0,7	38,0 ± 0,7
Mediana (rango)	41,2 (40,2 – 43,1)	38,2 (37,3 – 40,2)	37,3 (36,3 – 38,2)	38,2 (36,3 – 38,2)	38,2 (37,2 – 39,2)

Rangos normales de Densidad en adultos (disminuye con edad) - Anillo 1: 250 - > 130, Anillo 2: 140 - > 63, Anillo 3: 90 - > 45, Anillo 4: 70 - 35, Anillo 5: 58 - > 29 (μ V/grados). Rango normal de Latencia: 37 a 42 ms (puede disminuir en miopes).

Tabla 3. Potenciales visuales al inicio del estudio

	Latencia N75 1 g (ms) n = 10	Latencia P100 1 g (ms) n = 10	Amplitud P 100 1g (μ V) n = 10	Latencia N75 2 g (ms) n = 10	Latencia P100 2 g (ms) n = 10	Amplitud P 100 2g (μ V) n = 10
Promedio ± DS	76,2 ± 3,9	110,6 ± 5,8	9,8 ± 3,1	70,9 ± 9,2	111,7 ± 4,5	9,1 ± 2,4
Mediana (rango)	76 (69 – 82)	111 (103 – 119)	8,85 (6,1 – 17,1)	70 (60 – 89)	112 (104 – 119)	8,75 (6,3 – 13,6)

Valores normales obtenidos en una muestra piloto de sujetos jóvenes. Latencia Onda N = 76,6 ± 7,2 ms. Amplitud Onda N 13,4 ± 4,5 μ V. Latencia Onda P = 107,9 ± 7,0 ms. Amplitud Onda N 14,5 ± 4,6 μ V.

Artículo Original

Tabla 4. Porcentaje de cambio en valores de electroretinografía multifocal luego del tratamiento con placebo y colestiramina

Variables	Basal	Cambio post placebo (%)	Cambio post colestiramina (%)	p
Amplitud anillo 1 (μ V)	124,7 (95,6 – 168,3)	-2,8 (-41,4 – 64,7)	5,7 (-46,2 – 67,4)	0,95
Amplitud anillo 2 (μ V)	83 (65,5 – 98,1)	-18,4 (-36,7 – 11,3)	-7,8 (-23,3 – 21,4)	0,09
Latencia anillo 1 (ms)	41,2 (40,2 – 43,1)	-2,4 (-11,4 – 9,7)	-4,4 (-11,6 – 11,9)	0,95
Latencia anillo 2 (ms)	38,2 (37,3 – 40,2)	0 (-7,4 – 2,6)	-2,7 (-5,4 – 5,2)	0,81

Estadística es Wilcoxon signed Rank test.

Tabla 5. Porcentajes de cambio en valores de potenciales visuales luego del tratamiento con placebo y colestiramina

Variables	Basal	Cambio post placebo (%)	Cambio post colestiramina (%)	p
Latencia P100 1g (ms)	111 (103 – 119)	2,7 (-1,8 – 5,1)	1,4 (-9,8 – 12,8)	0,67
Amplitud P100 1g (μ V)	8,9 (6,1 – 17,1)	-12,4 (-32,6 – 12,5)	-4,6 (-52,8 – 68,6)	0,61

Estadística Wilcoxon signed Rank test.

Tabla 6. Cambio en valores de electroretinografía multifocal luego del tratamiento con colestiramina

Variables	Basales promedio* (n = 13)	Colestiramina	p	% Cambio post colestiramina
Amplitud anillo 1 (μ V)	138,9 (101 – 180)	140,8 (90,6 – 175,5)	0,737	6,2 (-38 – 48)
Amplitud anillo 2 (μ V)	83 (67 – 112)	85,1 (61 – 104)	0,983	-1,6 (-14 – 19)
Latencia anillo 1 (ms)	41,7 (39 – 52)	41,2 (37,3 – 46,1)	0,453	-0,5 (-19 – 13)
Latencia anillo 2 (ms)	38,0 (36 – 47)	37,8 (35,3 – 40,2)	0,167	-0,6 (-18,7 – 3,9)

*Basales promedio: corresponde al promedio de los valores inicial y luego de tratamiento con placebo. Valores corresponden a Mediana (rango) y estadística es t pareado.

Tabla 7. Cambio en valores de potenciales visuales luego del tratamiento con placebo y colestiramina

Variables	Basales promedio* (n = 13)	Colestiramina	p	% Cambio post colestiramina
Latencia P100 1g (ms)	111 (103 – 119)	108 (101 – 132)	0,835	-0,45 (-11 – 10)
Amplitud P100 1g (μ V)	8,9 (6,1 – 17,1)	10,4 (4,2 – 17,4)	0,571	-3,45 (-44 – 80)

*Basales promedio: corresponde al promedio de los valores inicial y luego de tratamiento con placebo. Valores corresponden a mediana (rango) y estadística es t pareado.

latencia de los anillos 1 y 2 del ERGMF debido a que son los menos influidos por vicios de refracción y los % de cambio en los potenciales visuales presentando latencia de la onda p100 y amplitud n75-p100. No se observaron diferencias significativas al comparar los cambios en el período placebo *versus* colestiramina. Al analizar los datos promediando los valores basales con los obtenidos post tratamiento con colestiramina, tampoco se observan cambios significativos atribuibles al tratamiento (Tablas 6 y 7).

En la Tabla 8 se presentan los cambios observados en las variables de laboratorio, resultando significativos solo un leve aumento porcentual en los niveles de triglicéridos y un descenso en los niveles séricos de vitamina D, post colestiramina.

En cuanto a asociaciones entre las variables estudiadas, no se detectó correlaciones significativas entre la HbA1c con ERGMF, pero sí una asociación inversa en potenciales visuales (amplitud onda P 100, $r = -0,64$, $p = 0,044$). Los niveles de CML basal se asociaron con

Tabla 8. Porcentaje de cambio en variables de laboratorio clínico luego del tratamiento con placebo y colestiramina

VARIABLES	Basal	Cambio post placebo (%)	Cambio post colestiramina (%)	p
Hemoglobina glicosilada (%)	7,1 (6,2 – 8,4)	-1,5 (-13,5 – 12,7)	-3,2 (-29,8 – 13,8)	0,21
Colesterol total (mg/dL)	161 (141 – 223)	-13,5 (-30,5 – 38,5)	2,8 (-29,1 – 58,9)	0,24
Colesterol HDL (mg/dL)	46,0 (37 – 80)	0 (-13,2 – 24,3)	-2,8 (-15,8 – 11,3)	0,71
Colesterol LDL (mg/dL)	81 (45 – 141)	0 (-55,3 – 93,3)	-4,15 (-22,3 – 109,9)	0,48
Triglicéridos (mg/dL)	99 (70 – 220)	-9,8 (-58,9 – 34,5)	20 (-25,4 – 89,1)	0,004
Creatinina (mg/dL)	0,72 (0,5 – 1,2)	7,1 (0,9 – 14,5)	5,8 (-8,5 – 12,1)	0,22
Albúmina/creatinina orina (mg/g)	6,5 (2,5 – 71)		-45,9 (-100 – 140)	
Vitamina D (ng/mL)	23,9 (19,9 – 36,4)	1,2 (-12,8 – 27,8)	-24,1 (-52 – 32)	0,048
Proteína C reactiva ultrasensible (mg/L)	31,7 (3,4 – 59)	17,7 (-39 – 141)	-0,4 (-3,7 – 17,4)	0,18
Carboximetilisinina (ug/uL)	406 (266 – 491)	8,1 (-19,1 – 34,2)	2,6 (-26,5 – 44)	0,14

Valores corresponden a mediana y rango. Estadística con Wilcoxon Sign Rank test.

latencia en onda N75 ($r = 0,75$ $p = 0,012$). Los cambios en los parámetros neuro-oftalmológicos post tratamiento con colestiramina no se asociaron a ninguna de las demás variables analizadas.

Discusión

Los resultados de este estudio piloto efectuado en 7 pacientes, con una intervención abierta y de solo 3 meses de duración, no permitieron establecer un efecto significativo de la colestiramina en dosis de 6 g/día durante 3 meses, para reducir los niveles séricos de AGEs (en este caso representados por CML), ni sobre el marcador de inflamación PCRus, ni en los parámetros neuro-oftalmológicos.

Si bien este estudio piloto tiene las evidentes limitaciones de un tamaño muestral reducido y tiempo de tratamiento breve, nos permitió establecer la variabilidad intra e interindividual de las variables en estudio, durante el período placebo. Además, este diseño nos permitió comprobar que los pacientes sí lograban ingerir las 12 cápsulas diarias indicadas si se los motivaba bien. Esto era fundamental debido a que la colestiramina no puede encapsularse en más de 500 mg para poder ser deglutida sin problemas y para ejercer su efecto quelante de sales biliares y AGEs dietarios se debía ingerir varias veces al día, durante las comidas principales. Por otra parte, a corto andar, nos dimos cuenta de que era prácticamente imposible diseñar un estudio ciego utilizando colestiramina, debido al evidente mal olor de este fármaco al abrir el envase. Afortunadamente esto no producía halitosis en los pacientes al ingerirlo y observamos muy escasos efectos adversos, principalmente una tendencia a mayor consti-

pación como era de esperarse, sin requerirse tratamientos específicos para resolverla. Así el período placebo resultó fundamental para lograr una adherencia adecuada a la ingesta de 12 cápsulas diarias.

Los pacientes seleccionados tenían bastantes años de enfermedad y control metabólico variable, sin embargo, solo 2 presentaban evidencias de microangiopatía (uno en retina y otro microalbuminuria, que revirtió post colestiramina) y en todos los casos las variables electroretinográficas y potenciales visuales estaban dentro de rangos normales. Es posible que por esta última razón no se observaran cambios significativos post intervención, sin embargo, también pudiéramos atribuir la ausencia de cambios significativos a otros factores. Entre éstos lo más relevante es que la dosis de colestiramina utilizada fue baja (6 g), pero se estableció así considerando las dificultades para lograr adherencia a dosis mayores por el número de cápsulas requeridas y posibilidad de mayores efectos adversos gastrointestinales. La colestiramina en dosis hipolipemiantes (8-16 g/día) logra efectos favorables sobre el control metabólico de la diabetes²⁹, aunque en Norteamérica se utiliza el Covelesam, teóricamente con menos efectos adversos³⁰. El grupo de Uribarri y colaboradores observaron disminución significativa de los niveles de AGEs con Sevelamer, otra resina quelante de fosfato y AGEs a nivel intestinal, en pacientes con insuficiencia renal crónica³¹. Este mismo grupo había observado reducción de los niveles de CML en algunos ensayos *in vitro* (Uribarri, datos no publicados).

A pesar de la baja dosis empleada en este estudio sí se observó una leve tendencia a mejor control metabólico, lo cual está actualmente bajo estudio para conocer los mecanismos involucrados³². De manera similar, luego de 3 meses de tratamiento con 6 g de colestiramina, los niveles

Artículo Original

de triglicéridos aumentaron leve pero significativamente, efecto conocido de este fármaco, que sería aparentemente transitorio, al menos en sujetos sanos, según las últimas evidencias, obedeciendo a un desbloqueo en la síntesis del factor de crecimiento de fibroblastos FGF-19, que inhibe la síntesis de ácidos biliares, triglicéridos y glucosa³³. En forma esperable, debido a una posible disminución en la absorción de lípidos, los niveles de vitamina D disminuyeron significativamente, alcanzando niveles bajo 20 ng/mL en 3 pacientes. Asimismo, los niveles de colesterol total y LDL tendieron a disminuir post colestiramina, aunque de manera no significativa.

Otra explicación de los resultados negativos puede atribuirse a la alta variabilidad de los niveles séricos de CML, especialmente al determinarse a través de métodos inmunológicos como el ELISA empleado en este estudio. A pesar de que CML y metilglioxal (MG) son los AGEs más representativos, aun no existe consenso en cuál es el método más apropiado para determinarlos y cuáles serían los puntos de corte considerados de riesgo. Debido a limitaciones presupuestarias no pudimos determinar otros AGEs, ni utilizar metodologías más específicas. En forma similar, el indicador de inflamación utilizado, PCRus resultó excesivamente variable en los 3 tiempos estudiados, hecho que se intentó controlar efectuando las determinaciones simultáneamente al finalizar el estudio.

Con estos resultados preliminares podemos suponer que podrían requerirse dosis mayores de colestiramina para lograr diferencias en niveles séricos de CML y eventualmente otros AGEs, porque de otra manera el tamaño muestral requerido para obtener cambios significativos en las concentraciones sería superior a 400 sujetos por grupo. En cuanto a la evaluación neurooftalmológica, nos provee una ventana única para estudiar tanto el endotelio capilar como la indemnidad neuronal (conos de la retina en el ERGMF y vías miélicas en los potenciales evocados visuales), en etapas precoces, porque interesa prevenir o detener el desarrollo de las lesiones retinuales vasculares propias de la DM. Sin embargo, es posible que se requiera seleccionar sujetos que ya presenten algún grado de alteración en estas funciones, con grados mínimos o ausencia de retinopatía, para poder detectar cambios en respuesta a alguna intervención dietaria o farmacológica; en el presente ensayo todos las variables analizadas estuvieron dentro de los márgenes de normalidad para los rangos etarios estudiados, por lo cual era menos esperable conseguir mejorías asociadas al tratamiento.

En conclusión, este estudio piloto, si bien no logró efectos positivos, permitió investigar preliminarmente los efectos de un fármaco antiguo, pero con enormes potencialidades debido a sus efectos a nivel del metabolismo de sales biliares, específicamente el receptor farnesoide X y la microbiota intestinal, que actualmente están siendo ac-

tivamente investigadas por su participación en numerosas enfermedades, entre ellas obesidad, síndrome metabólico, hígado graso y diabetes mellitus³⁴.

Referencias bibliográficas

1. Said G. Diabetic neuropathy-a review. 2007. *Nature. Clin Practice Neurology* 3: 331-340.
2. Madonna R, Balistreri CR, Geng YJ, De Caterina R. 2017. Diabetic microangiopathy: Pathogenetic insights and novel therapeutic approaches. *Vascul Pharmacol* 90: 1-7.
3. Yamagishi SI, Nakamura N, Matsui T. 2017. Glycation and cardiovascular disease in diabetes: A perspective on the concept of metabolic memory. *J Diabetes* 9: 141-148.
4. Yamagishi S, Nakamura N, Matsui T. 2017. Glycation and cardiovascular disease in diabetes: A perspective on the concept of metabolic memory. *J Diabetes* 9: 141-148.
5. Vlassara H, Striker GE. 2013. Advanced glycation endproducts in diabetes and diabetic complications. *Endocrinol Metab Clin North Am* 42:697-719.
6. Monnier VM, Vishwanath V, Frank KE, Elmets CA, Dauchot P, Kohn RR. 1986. Relation between complications of type I diabetes mellitus and collagen-linked fluorescence. *N Engl J Med* 314: 403-408.
7. Makita Z, Radoff S, Rayfield EJ, Yang Z, Skolnik E, Delaney V, et al. 1991. Advanced glycosylation end products in patients with diabetic nephropathy. *N Engl J Med* 325: 836-842.
8. Kawai T, Takei I, Tokui M, Funae O, Miyamoto K, Tabata M, et al. 2010. Effects of epalrestat, an aldose reductase inhibitor, on diabetic peripheral neuropathy in patients with type 2 diabetes, in relation to suppression of N(varepsilon)-carboxymethyl lysine. *J Diabetes Complications* 24: 424-432.
9. Koschinsky T, He CJ, Mitsuhashi T, Bucala R, Liu C, Buenting C, et al. 1997. Orally absorbed reactive glycation products (glycotoxins): an environmental risk factor in diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 10; 94: 6474-6479.
10. Vlassara H, Palace MR. 2003. Glycoxidation: the menace of diabetes and aging. *Mt Sinai J Med* 70: 232-241.
11. Lin RY, Choudhury RP, Cai W, Lu M, Fallon JT, Fisher EA, et al. 2003. Dietary glycotoxins promote diabetic atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Atherosclerosis* 168: 213-220.
12. Zheng F, He C, Cai W, Hattori M, Steffes M, Vlassara H. 2002. Prevention of diabetic nephropathy in mice by a diet low in glycoxidation products. *Diabetes Metab Res Rev* 18: 224-237.
13. Chawla D, Bansal S, Banerjee BD, Madhu SV, Kalra OP, Tripathi AK. 2014. Role of advanced glycation end product (AGE)-induced receptor (RAGE) expression in diabetic vascular complications. *Microvasc Res* 95: 1-6.
14. Lindsey JB, de Lemos JA, Cipollone F, Ayers CR, Rohatgi A, Morrow DA, et al. 2009. Association Between Circulating Soluble Receptor for Advanced Glycation End Products and

- Atherosclerosis. Observations from the Dallas Heart Study. *Diabetes Care* 32:1218-1220.
15. Cai W, He JC, Zhu L, Chen X, Striker GE, Vlassara H. 2008. AGE-receptor-1 counteracts cellular oxidant stress induced by AGEs via negative regulation of p66shc-dependent FKHRL1 phosphorylation. *Am J Physiol Cell Physiol* 294:145-152.
 16. Uribarri J, Woodruff S, Goodman S, Cai W, Chen X, Pyzik R, et al. 2010. Advanced glycation end products in foods and a practical guide to their reduction in the diet. *J Am Diet Assoc* 110: 911-916.
 17. Uribarri J, Cai W, Ramdas M, Goodman S, Pyzik R, Chen X, et al. 2011. Restriction of Advanced Glycation End Products Improves Insulin Resistance in Human Type 2 Diabetes: Potential role of AGER1 and SIRT1. *Diabetes Care* 34: 1610-1616.
 18. Vlassara H, Cai W, Goodman S, Pyzik R, Yong A, Zhu L, et al. 2009. Protection against loss of innate defenses in adulthood by low AGE intake: Role of a new anti-inflammatory AGEreceptor-1. *J Clin Endocrinol Metab* 94:4483-4449.
 19. Uribarri J, Peppas M, Cai W, Goldberg T, Lu M, He C, et al. 2003. Restriction of dietary glycotoxins markedly reduces AGE toxins in renal failure patients. *J Am Soc Nephrol* 14: 728-731.
 20. Vlassara H, Uribarri J, Cai W, Goodman S, Pyzik R, Post J, et al. 2012. Effects of sevelamer on HbA1c, inflammation, and advanced glycation end products in diabetic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 7: 934-942.
 21. Yamagishi S, Matsui T. 2016. Pathologic role of dietary advanced glycation end products in cardiometabolic disorders, and therapeutic intervention. *Nutrition* 32: 157-165.
 22. Clarke RE, Dordevic AL, Tan SM, Ryan L, Coughlan MT. 2016. Dietary Advanced Glycation End Products and Risk Factors for Chronic Disease: A Systematic Review of Randomised Controlled Trials. *Nutrients* 8: 125-151.
 23. Jara N, Leal MJ, Bunout D, Hirsch S, Barrera G, Leiva L, et al. 2012. Dietary intake increases serum levels of carboxymethyllysine (CML) in diabetic patients. *Nutr Hosp* 27: 1272-1278.
 24. Rodríguez JM, Leiva L, Concha MJ, Mizón C, Bunout D, Barrera G, et al. 2015. Reduction of serum advanced glycation end-products with a low calorie Mediterranean diet. *Nutr Hosp* 31: 2511-7.
 25. Bronson-Castain KW, Barse MA, Neuville J, Jonasdotiir S, King-Hooper B, Barez S, et al. 2009. Adolescents With Type 2 Diabetes. Early Indications of Focal Retinal Neuropathy, Retinal Thinning, and Venular Dilation. *Retina* 10: 1-9.
 26. Parisi V, Tedeschi M, Gallinaro G, Varano M, Saviano S, Piermarocchi S, CARMIS Study Group. 2008. Carotenoids and antioxidants in age-related maculopathy Italian study. *Ophthalmology* 115: 32-333.
 27. Laron M, Barse MA Jr, Bronson-Castain K, Jonasdottir S, King-Hooper B, Barez S, et al. 2012. Association between Local Neuroretinal Function and Control of Adolescent Type 1 Diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 53: 7071-7076.
 28. Verdugo RJ, Brito A, Hertampf E, Castillo JL, Lavados M, Albala C, et al. 2009. Functional impact of vitamin B12 deficiency on nerve conduction velocity parameters in the elderly. *J Neurol Sci* 285, Suppl. 1: S153.
 29. Garg A, Grundy SM. 1994. Cholestyramine therapy for dyslipidemia in non-insulin-dependent diabetes mellitus. A short-term, double-blind, crossover trial. *Ann Intern Med* 121: 416-22.
 30. Brunetti L, DeSantis EH. 2015. Patient tolerance and acceptance of colesevelam hydrochloride: focus on type-2 diabetes mellitus. *Pharmacy & Therapeutics* 40: 62-7.
 31. Yubero-Serrano EM, Woodward M, Poretzky L, Vlassara H, Striker GE; AGE-less Study Group. 2015. Effects of sevelamer carbonate on advanced glycation end products and antioxidant/pro-oxidant status in patients with diabetic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 10: 759-66.
 32. Out C, Groen AK, Brufau G. 2012. Bile acid sequestrants: more than simple resins. *Curr Opin Lipidol* 23:43-55.
 33. Sjöberg BG, Straniero S, Angelin B, Rudling M. 2017. Cholestyramine treatment of healthy humans rapidly induces transient hypertriglyceridemia when treatment is initiated. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 313: E167-E174.
 34. Chávez-Talavera O, Tailleux A, Lefebvre P, Staels B. 2017. Bile Acid Control of Metabolism and Inflammation in Obesity, Type 2 Diabetes, Dyslipidemia, and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology* 152: 1679-1694.