Artículo **Revista de Análisis Cuantitativo y Estadístico**
Diciembre 2016 Vol. 3 No. 9 13-16

# Estado del estallido respiratorio y de la O-GlcNAcilación en neutrófilos de pacientes con diabetes mellitus y enfermedad periodontal

RUÍZ-PICHARDO, Yael†*, JIMÉNEZ-CASTILLO, Victoria, ALPUCHE-OSORNO, Juan y SOLÓRZANO-MATA, Carlos

*Universidad Autónoma "Benito Juárez" de Oaxaca*

Recibido 01 de Septiembre, 2016; Aceptado 22 de Noviembre, 2016

## Resumen

Determinar el comportamiento de la O-GlcNAcilación y del estallido respiratorio en neutrófilos de sangre periférica de individuos sanos y de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 con enfermedad periodontal. Metodología. Se realizó historia clínica completa y exploración bucal de individuos sanos y de pacientes con diabetes mellitus y enfermedad periodontal. Se aislaron neutrófilos de sangre periférica y se evaluó estallido respiratorio por redcución de NBT, expresión de O-GlcNAc por inmunicitoquímica y sitios potenciales de O-GlcNacilación en proteínas involucradas en el estallido respiratorio por bioinformática. Contribución. La producción de radicales libres se encuentra disminuida en individuos sanos en comparación con los pacientes, la O-GlcNAc es localizada en citoplasmas y es mayor en pacientes comparado con los individuos sanos. Es posible que existan proteínas O-GlcNAciladas involucradas en el estallido repiratorio las cuales requieren ser caracterizadas por estudios de proteómica y conocer su participación en la fisiopatología de la enfermedad.

**O-GlcNAcilación, neutrófilos, diabetes, enfermedad periodontal, estallido respiratorio.**

## Abstract

Determine the behavior of the O-GlcNAcilación and respiratory burst in peripheral blood neutrophils from healthy individuals and patients with type 2 diabetes mellitus with periodontal disease. Methodology. Complete medical history and oral examination of healthy individuals and patients with diabetes mellitus and periodontal disease was made. peripheral blood neutrophils were isolated and assessed by respiratory burst redcución NBT, expression of O-GlcNAc by inmunicitoquímica and potential sites of O-GlcNacilación in proteins involved in the respiratory burst by bioinformatics. Contribution. The free radical production is diminished in healthy individuals as compared to patients, the O-GlcNAc is located in cytoplasm and is higher in patients compared to healthy individuals. There may be O-GlcNAciladas proteins involved in the outbreak repiratorio which need to be characterized by proteomic studies and know its involvement in the pathophysiology of the disease.

**O-GlcNAcilación, neutrophils, diabetes, periodontal disease, respiratory burst.**

**Citación:** RUÍZ-PICHARDO, Yael, JIMÉNEZ-CASTILLO, Victoria, ALPUCHE-OSORNO, Juan y SOLÓRZANO-MATA, Carlos. Estado del estallido respiratorio y de la O-GlcNAcilación en neutrófilos de pacientes con diabetes mellitus y enfermedad periodontal. Revista de Análisis Cuantitativo y Estadístico 2016, 3-9: 13-16

† Investigador contribuyendo como primer autor
* Correspondencia al autor: (yrp.21@hotmail.com)

**© ECORFAN-Bolivia** 

## Introducción

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad crónica degenerativa, caracterizada por hierglicemia y alteraciones en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas como resultado de una resistencia y/o defecto en la secreción de la misma[1].

La DM tipo 2 es la forma más frecuente de DM, representa el 90-95% de lo casos[2]. Las complicaciones de esta enfermedad presentan un enorme impacto en la salud general de los pacientes. Se ha descrito diversas alteraciones bucales en pacientes diabéticos, incluidas queilosis, sequedad y grietas en la mucosa, ardor en la boca y la lengua, así como alteraciones en la microbiota oral. Dentro de las alteraciones en la DM o controlada se encuentran las alteraciones de los mecanismos de defensa ocasionando una mayor susceptibilidad a infecciones, aumentando así el riesgo para desarrollar enfermedad peridontal[3,4].

La enfermedad periodontal es un grupo de enfermedades específicas de carácter infeccioso-inflamatorio que afecta la encía, tejido conectivo de soporte y hueso alveolar, que de acuerdo al grado de compromiso puede llevar a la pérdida total de estos tejidos. La periodontitis clínicamente se caracteriza por la presencia de bolsas periodontales y pérdida de inserción al sondeo, destrucción de hueso alveolar y movilidad dentaria. La enfermedad comienza cuando las bacterias localizadas en el epitelio del surco producen factores de virulencia, estimulando así la producción de defensinas y citocinas proinflamatorias, de esta forma los neutrófilos polimorfonucleares (PMNs) son activados favoreciendo el proceso inflamatorio mediante la liberación de especies reactivas del oxígeno, catepsina G, lactoferrina, defensinas, mieloperoxidasa, metaloproteinasas y serin proteasas[5, 6, 7, 8].

La mayor susceptibilidad de los pacientes diabéticos a las infecciones se ha atribuido a las alteraciones en la función de los PMN, como resultado, se encuentra una disminución en los mecanismos de defensa contra los patógenos periodontales, favoreciendo la proliferación bacteriana y por lo tanto una mayor susceptibilidad a desarrollar periodontitis[5, 9].

La O-GlcNAcilación es una modificación postraduccional reversible que consiste en la adición de GlcNAc a residuos de serina/treonina de proteínas citosólica y nucleares[10]. Es de gran importancia en la homeostais celular regulando el ciclo celular, la transcripción y el crecimiento tumoral. En PMNs se ha identificado la expresión de esta modificación, relacionándose con la señalización celular y la motilidad[11], sin embargo, no se conoce los cambios de la expresión de O-GlcNAc y su posible relación con el estallido respiratorio en la diabetes mellitus así como en la enfermedad periodontal y su fisiopatología en estas enfermedades[12].

## Metodología

El presente estudio es de tipo experimental. En 4 individuos y 7 pacientes con enfermedad periodontal, previo consentimiento informado Se realizó historia clínica completa y exploración bucal de individuos sanos y de pacientes con diabetes mellitus y enfermedad periodontal. Se aislaron neutrófilos de sangre periférica y se evaluó estallido respiratorio por reducción de NBT, expresión de *O*-GlcNAc por inmunicitoquímica y sitios potenciales de *O*-GlcNacilación en proteínas involucradas en el estallido respiratorio por bioinformática.


ECORFAN todos los derechos reservados

## Resultados

Participaron 4 (36.4%) sujetos sanos y 7 (63.6%) con DM. Se identificó una disminución en la producción de ER en pacientes diabéticos con enfermedad periodontal en comparación con individuos sanos ($p < 0.05$) como se puede observar en la figura 1.

La expresión de O-GlcNAc se observó en el citoplasma de los PMNs, posterior a la estimulación, se identificó un incremento de esta modificación postraduccional en neutrófilos del grupo de pacientes con una expresión máxima a los 4 minutos de estimulación a diferencia de los individuos sanos que fue de menor intensidad, como se muestra en la figura 2.

El análisis bioinformático mostró en todas las proteínas exploradas sitios potenciales de O-GlcNAcilación: hexoquinasa, G6DH, p67phox, p47phox, p40phox, gp91phox y p22phox, como se muestra en la tabla 1.

## Anexos

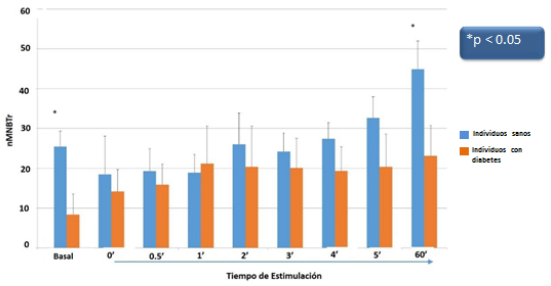


**Figura 1** Producción de radicales libres en neutrófilos de sangré periférica en individuos sanos y diabéticos con enfermedad periodontal por reducción con NBT.

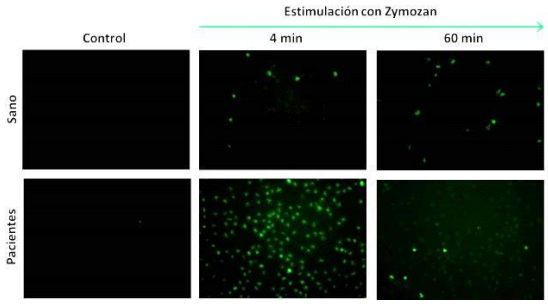


**Figura 2** Expresión de *O*-GlcNAc en neutrófilos de sangre periférica de individuos sanos y con diabetes-enfermedad periodontal

Tabla 3. Sitios potenciales de *O*-GlcNAcilacion en proteinas involucradas en la produccion de radicales libres en el estallido respiratorio por la NADPH oxidasa. ID: HXA3_Human

| ID de la secuencia | Proteína | SegName expasy | Residuo | *O*-GlcNAc | Potencial de *O*-GlcNAc | Sitio de *O*-GlcNAc /Fosforilacion |
|---|---|---|---|---|---|---|
| EAW99601.1 | Hexoquinasa 2 | gi_11962000 | 380 | ++ | 0.6292 | |
| | | | 457 | + | 0.5553 | |
| | | | 610 | + | 0.4566 | 0.652 |
| AAH81559.1 | G6PDH | gi_51859374 | 158 | + | 0.5179 | |
| | | | 284 | ++ | 0.6360 | |
| | | | 391 | + | 0.4923 | |
| | | | 415 | + | 0.5850 | |
| | | | 541 | + | 0.4916 | |
| | | | 627 | ++ | 0.5439 | 0.932 |
| | | | 719 | ++ | 0.6368 | |
| AAA57339.1 | p67 | gi_603225_g | 3 | ++ | 0.5669 | |
| | | | 268 | + | 0.4868 | |
| | | | 404 | + | 0.4891 | |
| | | | 471 | + | 0.4922 | |
| | | | 525 | ++ | 0.6179 | 0.905 |
| | | | 552 | + | 0.4881 | 0.895 |
| BAA82887.1 | p47 | gi_5689259_ | 77 | ++ | 0.6532 | |
| | | | 86 | + | 0.5036 | |
| | | | 92 | ++ | 0.5276 | 0.706 |
| | | | 94 | + | 0.4127 | |
| | | | 109 | + | 0.4732 | 0.883 |
| | | | 123 | + | 0.5042 | 0.992 |
| | | | 285 | + | 0.4447 | 0.963 |
| | | | 326 | + | 0.3491 | 0.917 |
| | | | 362 | + | 0.5221 | |
| CAB09808.1 | p40 | gi_2217970_ | 61 | + | 0.4472 | 0.964 |
| | | | 128 | + | 0.4874 | 0.987 |
| | | | 132 | +++ | 0.6526 | |
| | | | 133 | +++ | 0.6150 | 0.981 |
| | | | 137 | ++ | 0.4537 | 0.994 |
| | | | 140 | ++ | 0.5407 | |
| | | | 143 | ++ | 0.6383 | |
| | | | 144 | + | 0.4892 | |
| | | | 191 | + | 0.4308 | 0.725 |
| | | | 236 | ++ | 0.5017 | |
| | | | 306 | ++ | 0.6684 | |
| | | | 369 | + | 0.5193 | |
| NP_000388.2 | gp91 | gi_6996021_ | 134 | ++ | 0.5464 | |
| | | | 138 | + | 0.5379 | |
| | | | 192 | + | 0.5012 | |
| | | | 414 | + | 0.5581 | |
| NP_000092.2 | p22 | gi_68509914 | 153 | + | 0.4773 | 0.651 |
| | | | 191 | +++ | 0.7211 | |

## Agradecimientos

Este proyecto fue financiado por y PRODEP "Apoyo al Fortalecimiento de Cuerpos Académicos 2013".

## Conclusiones

El estallido respiratorio de los pacientes diabéticos con enfermedad periodontal se encuentra disminuido y la expresión de *O*-GlcNAc en el citoplasma de neutrófilos se encuentra aumentada en comparación con los individuos sanos.


ECORFAN todos los derechos reservados

Existe la posibilidad que las proteínas involucradas en el estallido respiratorio sean *O*-GlcNAciladas evidenciadas por el análisis bioinformático. Se requiere identificar plenamente la existencia de esta modificación en las proteínas exploradas mediante proteómica y evaluar el papel funcional de estas modificaciones postraduccionales en el estallido respiratorio y su repercusión clínica.

## Referencias

Guzmán-Flores, JM, López-Briones, S. (2012). Células de la inmunidad innata y adaptativa en la diabetes mellitus tipo 2 y obesidad. Gaceta Médica de México, 148, 381-389.

Durán-Varela, BR. (2001) Apego al tratamiento farmacológico en pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2. Salud pública de México, 43(3), 233-236.

Klokkevold, P. (2012) Relación entre enfermedad periodontal y salud sistémica. En Newman M., Takei H., Klokkevold P., Carranza F. Periodoncia clínica (pp 331-384). 11ª Ed. Elsevier;.

González - Guevara MB y cols. Prevalencia de trastornos bucales en población con diabetes mellitus. RevMedInstMex Seguro Soc 2008; 46 (3): 237-245.

Dale BA. (2002). Periodontal epithelium: a new recognized role in health and disease. Periodontology 2000, 30, 70-78.

Bosshardt DD, Lang N. (2005) The junctional epithelium: from health to disease. J Dent Res, 84, 9-20.

Nanci A. Bosshardt DD. (2006) Structure of Periodontal tissues in health and disease. Periodontal, 40, 11-28.

Choy EY, Santoso S, Chavakis T. (2009). Mechanisms of neutrhophil transendothelial migration. Front Biosci, 1 (14), 1596-605.

Discepoli N., Bascones Martínez A. (2008) Controversias etiológicas, diagnósticas y terapéuticas de la periodontitis agresiva. Av Periodon Implantol, 20 (1), 39-47.

Golks A, Guerini D. (2008). The O-linked N-acetylglucosamine modification in celularsignalling and the inmune system. EMBO reports, 9(8), 748-753.

Issad T. (2010) O- GlcNAcglycolsylation et régulation de la signalisationcellylaire. Medecine/Sciences, 26, 753-759.

T. Kneass Z, B. Marchase R. (2005). Mechanisms of Signal Transduction: Protein *O*-GlcNAc Modulates Motility-associated Signaling Intermediates in Neutrophils. J. Biol. Chem, 280, 14579-14585.

## Agradecimientos

Este proyecto fue financiado por PROFI PRODEP “Apoyo al Fortalecimiento de Cuerpos Académicos”.


ECORFAN todos los derechos reservados