

“Integración de un paradigma: mecanismos biomoleculares y patogénicos, precursores de las complicaciones de la diabetes”

Académico Dr. Mario Sánchez Medina

Intolerancia a la glucosa (FGT–OGT). Resistencia a la insulina. Prevalencia e intervención

Introducción

Los Académicos organizadores de esta reunión, me dejan sin palabras, y me han conmovido porque se extremaron en su benevolencia, para quien sólo tiene para ellos la expresión de mi gratitud que les presento con respeto: a nuestro Presidente Zoilo Cuéllar-Montoya, a los expresidentes Hernando Groot Liévano, Secretario Perpetuo, Efraim Otero-Ruiz, amigo sin igual a quien conocí en plena juventud, y también a los expresidentes Jorge Cavellier Gaviria, Gilberto Rueda Pérez, José Félix Patiño Restrepo y Juan Mendoza-Vega, al doctor Alfredo Jácome Roca quien honrosamente me acompaña en la Asociación Colombiana de Diabetes, y a Guillermo Sánchez Medina, quien ha visto la obra a través de nuestros padres mi fraternal afecto”.

“La labor de la Asociación ha sido ardua. En estos últimos veinte años, la segunda y fructífera etapa de la Institución, le ha permitido llegar a este momento, gracias a quienes entregan su tiempo voluntario: Presidentes y Miembros de las Juntas Directivas, el Subdirector Científico, Dr. Pablo Aschner, quien transformó la Institución, las Damas Voluntarias, quienes siguieron con amor la meta que les dio nuestra madre, y la inigualable Directora Administrativa, doña Mercedes Triana de Torrado. Son ellos quienes pueden sentirse orgullosos de haber dedicado una parte de su vida para presentar hoy una obra de servicio sin nada terreno que recibir. Así mismo los profesionales médicos y paramédicos quienes trabajan en la Institución, cuya función es la atención y la educación del enfermo, deben estar satisfechos de haber cumplido nuestro lema de “Ciencia y Servicio”.

“En estos 50 años de práctica especializada han pasado por mí muchos días de estudio y reflexión, desde cuando en 1950 se inició en Colombia el uso de la insulina NPH de acción retardada, sin medios inmediatos para controlar su acción. Luego, en 1956, llegaron a Colombia las sulfodrogas y en 1960 las biguanidas, entonces proscritas y hoy de nuevo indicadas en las etapas iniciales de la diabetes 2. Siguen en todo el mundo cuatro décadas de gran progreso en la investigación experimental y humana de diversos sistemas tales como la genómica, proteómica, nanotecnología e inmunobiología molecular, mediante las cuales, en el mundo desarrollado, científicos altamente especializados buscan con pasión la curación y prevención de la enfermedad”.

“Honorables Académicos: presento a Ustedes mi sincero reconocimiento, mis sentimientos de profunda admiración por haberme permitido departir con cada uno de Ustedes y con quienes sí tienen los méritos y razones para ser colocados en la máxima posición Honoraria de la Corporación. Esta es una gracia que me ha dado la vida y la recibo con orgullo de Ustedes, las figuras cimeras de la medicina colombiana”.

“Inmensa cantidad de información mundial científica y hasta periodística hay sobre el progreso de la incidencia y prevalencia de la diabetes, que en los países desarrollados se espera para el año 2025 se espera un incremento del 42%, esto es, de 51 millones actuales a 72 millones en el futuro. En los países en desarrollo, la cifra casi se triplica a un 170% de 84 millones actuales a 228 millones para el año 2025”.

“Sin embargo, el problema que a todos impresiona es el hallazgo de que las complicaciones microvascu-

lares son evidentes en números significativos de individuos antes de que sean confirmados como diabéticos”.

“Esta es la razón de la presente revisión, traer un simple mensaje para analizar muy someramente los mecanismos biomoleculares y patogénicos de las complicaciones microvasculares en la diabetes 2. Es decir, cómo se desarrollan los problemas en la diabetes 2”.

Inmensa cantidad de información científica y periodística hay sobre el tema del progreso de la diabetes en el mundo, particularmente en los países desarrollados, que se refleja también en los países en desarrollo con inquietante incertidumbre, por el incremento vertiginoso de la enfermedad. Uno de los problemas que más concierne a los profesionales de la salud y, desde luego, a las familias que tienen diabetes, obesidad y factores genéticos predisponentes en sus antecedentes, es el hallazgo de la presencia de complicaciones microvasculares antes de que ellos mismos sepan que están desarrollando la enfermedad.

En la década pasada hubo diversos consensos para llegar a la definición de diabetes expresada por las cifras de glucosa en sangre, hasta que en 1997 la Asociación Americana de Diabetes (ADA) y la Organización Mundial de la Salud (WHO) establecieron criterios para definir cuándo una persona era diabética o tenía una intolerancia a la glucosa. Unos nos adherimos al criterio de la ADA, otros siguen el de la WHO, que no son excluyentes. Quienes preferimos el criterio de la ADA para diferenciar las tres condiciones fundamentales: Intolerancia en ayunas a la glucosa, alteración en la curva de tolerancia a la glucosa y diabetes declarada, seguimos las pautas por ellos establecidas:

Una glicemia en ayunas entre 110 y 125 mg, o una curva de tolerancia a la glucosa con cifras a las dos horas entre 140 y 199 mg. son anormales y se clasifican como intolerancia en ayunas la primera, e intolerancia en la curva, la segunda. Así mismo, cifras mayores de 126 mg. en ayunas y mayores de 200 mg. a las dos horas después de la sobrecarga de glucosa, son indicativos absolutos de diabetes.

Conforme a estos criterios, cualquier elevación en las cifras consignadas significan una alteración desde ya anormal en el momento en que se hizo el examen, que va progresando desde la elevación de la glucosa en ayunas, a la alteración de la curva de tolerancia a la glucosa, con o sin resistencia a la insulina y, posteriormente, a la diabetes 2.

En cualquiera de dichas condiciones puede estar presente la resistencia a la insulina descrita inicialmente por Reaven en 1988, seguida de una gran serie de investigaciones, hasta que en 1991 DeFronzo caracterizó el síndrome metabólico que está integrado por obesidad, hipertensión, dislipidemia y enfermedad vascular aterosclerótica. Vale la pena mencionar que en este lapso ya estaba definida la clasificación de la diabetes y sus complicaciones.

El concepto de resistencia a la insulina es sencillo.

El organismo por múltiples razones y, entre ellas, la obesidad, produce un aumento compensatorio de la secreción de la insulina por el páncreas ante el estímulo desajustado de la glucosa, que da lugar a la neoglucoénesis hepática, debido a una débil estimulación de las señales intracelulares, que conllevan una reducida captación de la glucosa dependiente de la insulina en el músculo esquelético y, una descompensación excesiva de grasas por el tejido adiposo que produce aumento de los ácidos grasos libres (FFA) en el plasma. Con estos datos se publicaron estudios de prevalencia de la alteración de la curva de tolerancia.

Posteriormente en un proyecto denominado Diabetes Prevention Program Research (DPP), que identificó en 1082 individuos, la prevalencia de la alteración de la curva de tolerancia a la glucosa y de la glicemia en ayunas, comprobó que individuos con edades comprendidas entre 50 y 59 años, el 11.2%, presentaba la intolerancia ayunas o en la curva y en edades de 60 a 75 años, 14.2% de ellos también eran intolerantes.

Posteriormente fueron seleccionados 1082 individuos, la mitad de ellos recibió placebo y el segundo grupo, dieta y metformina. Los resultados fueron muy claros por cuanto los pacientes con intolerancia entre 140 a 199 mg. que recibieron placebo, a los 3 años pasaron a diabetes declarada y 25% de ellos con dieta, ejercicio y metformina, normalizaron la intolerancia a la glucosa.

El paso siguiente al estudio DPP fue la investigación de las condiciones, que de acuerdo con las investigaciones de los tres últimos quinquenios, identificaron la albuminuria, la nefropatía, la retinopatía y la enfermedad coronaria también con alteración en la OGT.

Luego, la investigación básica y experimental y posteriormente humana, empezaron a delinearse hechos fisiopatológicos muy significativos, para explicar inicialmente cómo se altera el flujo normal vascular que aumenta la permeabilidad endotelial, la obstrucción capilar progresiva, la degeneración axonal bifocal y el comienzo de la patología renal, identificada por la microalbuminuria. Igualmente quedó establecido que la hiperglicemia y la resistencia a la insulina juegan papel importante en la patogénesis de las complicaciones macrovasculares de la diabetes.

Posteriormente vino un factor que debe tenerse en cuenta, la llamada, “hipótesis de aceleración”, que predice el gran riesgo de desarrollar diabetes tipo 1 en poblaciones con sobrepeso en la infancia y que implica también a grupos étnicos, genéticos y etéreos. Esta hipótesis ha sido reconfirmada recientemente y conlleva implicaciones importantes en la prevención de la enfermedad.

Las reflexiones anteriores y la revisión de las más recientes publicaciones sobre complicaciones tanto en la diabetes 1 como en la diabetes 2, me ha llevado a explorar hechos fisiopatológicos que tengan una base diagnóstica evidente, para detectar el desarrollo de

alteraciones específicas de la enfermedad que posiblemente solo se hubieran detectado en el momento en que el individuo consulta por su diabetes. Por otra parte la diabetes tipo 1, en su modelo autoinmune, también puede desarrollar complicaciones de detección temprana, particularmente en el presente, cuando se reconoce la diabetes tipo 2 en un niño o en un joven.

Concretamente los dos modelos de diabetes con los respectivos subtipos ya aceptados son diferentes en sus etapas, en sus características inmunológicas y genéticas y en su relativa lentitud en identificar los signos evidentes de sus complicaciones que fatalmente van a ocurrir en la historia natural de la diabetes.

La representación esquemática de la diabetes tipo 1 es clara y a la luz de los conocimientos actuales, parte de bases inmunogenéticas. En cambio la diabetes tipo 2 no tiene un esquema comparable sino al iniciar el momento de las complicaciones microvasculares. Hay un trayecto cuyas etapas no pueden definirse con exactitud. Sin embargo, la intolerancia a la glucosa en ayunas o en la curva y la resistencia a la insulina sí dejan clara la idea de un período trascendental en la prevención de la enfermedad antes de que surja el daño vascular que además de ser prevenible, puede ser curable si la intervención es oportuna, activa y continuada.

Ubicados ya en un panorama patogénico definido frente al daño microvascular, es posible integrar dos modelos que están separados en su comienzo por las bases inmunológicas de la diabetes tipo 1 y por los aspectos químicos y biomoleculares de la diabetes 2. Por consiguiente, en esta breve revisión los objetivos son presentar los hechos más protuberantes de la inmunopatogénesis de las complicaciones vasculares precoces en los modelos mencionados.

Patogénesis de las complicaciones microvasculares de la diabetes

La patogénesis de la aterosclerosis en no diabéticos tiene recientes y muy completas revisiones y siempre se inician por el análisis de la disfunción endotelial. Esta condición también está presente en las arterias de individuos con resistencia a la insulina.

La enfermedad microvascular diabetes/específica en la retina, en el glomérulo renal y en los vasa nervorum, tienen mecanismos fisiopatológicos similares. En el comienzo de la enfermedad, la hiperglicemia intracelular produce en el humano anomalías en el flujo sanguíneo. Estas alteraciones conllevan una disminución en la actividad de los factores vasodilatadores intracelulares, tales como el óxido nítrico (NO) y un aumento en la vasoconstricción por incremento de la angiotensina II y la endotelina-1, todo lo cual viene acompañado con el incremento en la elaboración de los factores de permeabilidad, tales como el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF).

Al propio tiempo aparecen las modificaciones cuantitativas y cualitativas de la matriz extracelular, que dejan una hiperpermeabilidad vascular irreversible. Viene entonces la pérdida de células de la estructura microvascular, dentro del programa de apoptosis, todo lo cual conduce a la oclusión capilar y a la sobreproducción de la matriz extracelular. En este momento, es cuando los factores transformadores de crecimiento (TGF- β) participan en el depósito de proteínas plasmáticas PAS +.

Finalmente, la hiperglicemia puede conducir a una disminución de los factores tróficos endoteliales y de la neurona. Todos estos cambios llevan al edema, a la isquemia y a la hipoxia inducida por la neovascularización en la retina que corren parejas con la expansión de la matriz mesangial, la glomeruloesclerosis y la degeneración axonal de los nervios periféricos.

Pero, ¿cuáles son los mecanismos por los cuales la hiperglicemia induce el daño microvascular? Cuatro hipótesis fundamentales acerca de cómo la hiperglicemia causa las complicaciones vasculares han generado un número importante de estudios epidemiológicos, químicos y biomoleculares.

Los tres modelos de complicaciones microvasculares precoces, antes de haberse establecido la diabetes, y analizadas a través de estudios epidemiológicos son: la neuropatía, la retinopatía y la microproteinuria renal, preludio de la nefropatía diabética.

Los mecanismos por los cuales la hiperglicemia induce el daño vascular están basados en cuatro hipótesis:

1. Aumento en la vía del flujo de los polioles.
2. Aumento de los productos de glicosilación avanzadas (AGE).
3. Activación de las isoformas de la proteinquinasa C (PKC).
4. Aumento en el flujo de la vía de la hexosamina.

La aldosa reductasa (Aditol: NAD(p)+1/oxidoreductasa) es la primera enzima en la vía de los polioles. Es citosólica y cataliza el NADPH dependiente de la reducción de una amplia variedad de compuestos carbonilos que incluyen la glucosa. La aldosa reductasa tiene muy baja afinidad con la glucosa y hay concentraciones normales de glucosa en personas no diabéticas. El metabolismo de la glucosa por esta vía es de muy bajo porcentaje. Al aumentar la glucosa intracelular se aumenta la conversión del polialcohol sorbitol con la correspondiente disminución de NADPH. Durante la hiperglicemia el flujo de esta vía es aproximadamente de 33% del total de la glucosa en uso y del 11% en los glóbulos rojos humanos.

El efecto de la hiperglicemia es el aumento del flujo de la vía de los polioles que incluye el sorbitol y, que no se difunde fácilmente a través de las membranas por lo cual se ha sugerido que da lugar a un daño

osmótico microvascular. Sin embargo está lejos de dar lugar a una alteración osmótica definitiva.

La hipótesis más reciente es que la oxidación del sorbitol por el NAD aumenta la relación NADH:NAD+ inhibiendo la actividad de la dehidrogenasa gliceraldehído/trifosfato (GADPH) y aumentando la concentración de trifosfato. Al elevarse las concentraciones de trifosfato se aumenta la formación de metilglioxal, un precursor de los AGEs y del diacilglicerol (DAG) que activa el PKC.

Los estudios de la inhibición de la vía de los polioles ha dado resultados inconsistentes. El único efecto positivo en un estudio multicéntrico controlado demostró que el zenarest es un potente inhibidor de la aldosa reductasa.

La segunda hipótesis plantea el aumento en la formación de productos finales de glicosilación avanzada (AGEs): Estos productos AGEs se encuentran en mayores cantidades en los vasos retinianos y glomerulares de los diabéticos. Se forman a partir de grupos carbonilos derivados de la glucosa que se generan intracelularmente, siendo la hiperglicemia el primer evento para su formación intra o extracelular.

Los AGEs provienen de una auto-oxidación intracelular de glucosa a glioxal por descomposición del producto Amadori (glucosa derivada 1amino/1 de oxifructosa) o a 3/de oxiglucosona, posiblemente acelerada por una amadoriasa y por fragmentación del gliceraldehído 3/fosfato y fosfato de dehidro-oxiacetona a metilglioxal y deoxiglucosona, reaccionando con amino grupos intracelulares y extracelulares para formar los AGEs. El metilglioxal y el glioxal son detoxificados por el sistema glioxalasa.

La producción intracelular de precursores AGE daña las células blanco por tres mecanismos:

1. Proteínas intracelulares modificadas por los AGEs alteran su función
2. Los componentes de la matriz extracelular modificada por los precursores de los AGEs interactúa con otros componentes de la matriz y sus receptores protéicos integrinas
3. Las proteínas plasmáticas modificadas por los precursores de los AGEs se unen a sus receptores en las células endoteliales, en las células mesangiales y en los macrófagos induciendo la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS).

La formación de AGEs altera las propiedades funcionales de varias moléculas importantes de la matriz endotelial. Un tipo de colágeno intermolecular al ligarse con los AGEs induce la expansión del paquete molecular.

La formación de AGEs en la matriz extracelular no solamente interfiere en las interacciones de la misma matriz sino que interfiere entre las interacciones célula-matriz, como sucede en el caso de la modificación del colágeno tipo IV cuyos dominios de ligadura disminuyen la adhesión de las células endoteliales.

Diversas proteínas que se unen con los AGEs se han identificado que incluyen la galectina/3, el receptor barrendero tipo II del macrófago y el receptor RAGE.

Consistente con este concepto de bloqueo de un receptor RAGE el cual es un miembro de la superfamilia de las inmunoglobulinas que inhibe el desarrollo de la nefropatía, aumenta, promueve la reparación de heridas y media en la traducción y generación de especies de oxígeno reactivo, activando el factor NF/KB.

La tercera hipótesis, del efecto de la hiperglicemia sobre el daño vascular es la activación de la proteína-quinasa C. (PKC) La familia de la PKC comprende quince isoformas, nueve de las cuales son activadas por el segundo mensajero de los lípidos, el diacilglicerol (DAG). La hiperglicemia intracelular aumenta el DAG en las células microvasculares de la retina y en el glomérulo renal de los animales diabéticos. La síntesis del DAG se aumenta a través de la reducción del fosfato de hidroxiacetona a glicerol 3/fosfato. Las isoformas b y d se activan primariamente a través de la hiperglicemia y también indirectamente a través de los receptores AGEs y por incremento de la vía de los polioles, aumentando a su vez las especies reactivas de oxígeno (ROS). La activación de las isoformas PCK/b media en las anormalidades del flujo retinal y renal, posiblemente por disminución en la producción de óxido nítrico y por aumento de la actividad de la endotelina/1. También la activación del PKC está implicada en la disminución glomerular de óxido nítrico en el músculo liso, lo cual está inducido por la hiperglicemia. La activación del PKC también inhibe la expresión del mRNA estimulada por la insulina, para la síntesis endotelial del óxido nítrico (eNOS). La hiperglicemia a su vez aumenta la endotelina 1 estimulada por la MAP/quinasa en el glomérulo y en el mesangio activada por las isoformas PCK. La activación del PCK por la hiperglicemia también induce la expresión de la permeabilidad aumentando el VEG del músculo liso.

La hiperglicemia induce anormalidades en el flujo sanguíneo en la permeabilidad endotelial. El PKC contribuye al aumento de la matriz microvascular por inducción en la expresión del TGF/b1 la fibrinonectina y el colágeno. El efecto es mediado posiblemente por la inhibición en la producción del ácido nítrico por el PKC. El PCK activado por la hiperglicemia induce la mayor expresión del factor activador/inhibidor/1 del activador del plasminógeno PAI/1.

El tratamiento experimental con inhibidores específicos PKC/b reduce la actividad del PKC en la retina y en el glomérulo renal de los animales en experimentación al mejorar el tiempo de circulación, la filtración glomerular y la corrección de la excreción de la albúmina urinaria, con las mismas isoformas inhibitoras en ratones DB/DB al inhibir el PKC se mejoró la expansión acelerada del mesangio.

La última hipótesis es el aumento del flujo a través de la vía de la hexosamina. El exceso de glucosa

dentro de la vía de la hexosamina causa diversas complicaciones vasculares en los animales de experimentación. En la vía normal de la glicólisis se producen substratos que requieren UDPN/UDP N acetil glucosamina que se requiere para la síntesis del proteoglicano, con la formación de glicoproteínas unidas al oxígeno. Al inhibir esta enzima que convierte la glucosa en la glucosamina mediante una glutamino fructuosa amidotransferasa (GFAT), puede bloquearse la hiperglicemia que ha intervenido en los factores de transcripción ya mencionados TGF/a, TGF/b1 y PAI/1. Esta vía es muy importante en el papel de la hiperglicemia que induce la resistencia de la insulina, a su vez inducida por las grasas. La vía de la hexosamina y la hiperglicemia consecutiva induce también cambios en la transcripción del gen para el PAI/1.

En síntesis, la activación de la vía de la hexosamina por la hiperglicemia puede resultar en diversos cambios tanto en la expresión del gen como en la función de las moléculas proteicas que forman parte de toda la cadena de eventos que llevan a las complicaciones vasculares de la diabetes.

La mitocondria y la producción de superóxido

La hiperglicemia inducida por la producción de superóxido mitocondrial (Sp1) activa la vía de la hexosamina e induce la expresión del PAI/1 por aumento de la glicosilación Sp1.

La producción de superóxido por la cadena de transporte electrónico mitocondrial aumenta la hiperglicemia derivada de los dadores de electrones que salen del ciclo tricarboxílico (TCA), NADAH y FADH2 que generan un cambio de potencial (DYm) por bombeo de protones a través de la membrana interna de la mitocondria. Esto induce el transporte al complejo III, aumentando la vida media de los radicales intermedios de la coenzima Q (ubiquinona) que reduce el O2 a superóxido. Este hallazgo ha descubierto un mecanismo más que refleja que la simple hiperglicemia induce la sobreproducción en la cadena respiratoria mitocondrial. Esto ha permitido demostrar que la diabetes y la hiperglicemia aumentan el estrés oxidativo sin interferir en otros mecanismos que llevan a daños ocasionados por la hiperglicemia. Cuando la diferencia de potencial electroquímico generado por el gradiente de protones a través de la membrana interna mitocondrial es alto, la generación de superóxido se prolonga como resultado de electrones dadores por el ciclo TCA.

Modelos clínico y molecular de la diabetes 1

Desde comienzo de la década pasada ha crecido el conocimiento patogénico de la diabetes 1 y, particularmente, el planteamiento inmunológico de la destrucción de las células β , condiciones en las cuales hay susceptibilidad poligénica y factores ambientales, que

se expresan en el mecanismo inmunológico con potenciales cada vez mayores para la predicción y prevención de la enfermedad.

El periodo progresivo pero lento de la fase inmunológica, permitió identificar los marcadores serológicos de la autoinmunidad, unos expresados como anticuerpos citoplasmáticos (ICA) otros como anticuerpos insulínicos y otros como anticuerpos de carboxilasa del ácido glutámico y, finalmente, los anticuerpos ICA512/IA2A que tuvieron en su momento expectativas profilácticas y terapéuticas pero posteriormente demostraron que se pierden prontamente para su oportuna cuantificación. Progresó la investigación pero también aumenta la incidencia de diabetes tipo 1 en diversas poblaciones étnicas.

Haciendo el ajuste a la edad, la diabetes varía: de 01/100.000 en la China, por ejemplo, a 40/100.000 en Finlandia. Esta cifra representa una variación de 400 en la incidencia en 100 poblaciones y por lo tanto no se puede pensar en que la distribución racial y étnica, de un modelo geográfico sino que la disparidad en el riesgo que se basa en las diferencias genéticas y ambientales.

Basado en los objetivos de esta breve revisión, es preciso analizar las bases inmunológicas sobre las cuales se explica la autoinmunidad como mecanismo inmunomolecular responsable de la activación de las células encargadas de presentar el antígeno (APC) a fin de que estas células puedan seguir su tráfico desde la periferia hasta el nódulo linfático. La célula dendrítica (DC) es el candidato más convincente para realizar esta tarea. La DC tiene sus progenitores en la médula ósea y llega a los órganos periféricos donde inicia su maduración y captura sustratos que incluyen células muertas en el proceso de fagocitosis. Diversos eventos ocurren en la interacción entre las células que mueren y los fagocitos.

En condiciones normales la primera situación que ocurre es la "ignorancia" de la célula representada por una eficiente acción de los fagocitos que compiten con una célula DC inmadura para depurar las células muertas y prevenir la presentación de los antígenos que tienen las células T. Llamemos a estos fagocitos, amateur, que pueden ingresar al macrófago pero no tienen acceso a la DC inmadura.

La segunda condición es "la inmunidad" o si queremos llamarla autoinmunidad. Cuando la DC madura se inicia la depuración de las células muertas que se escapan a la acción de los fagocitos barrenderos y entran a la célula dendrítica en paquetes, siempre en presencia de moléculas proinflamatorias tales como la interleukina beta (ILb) y el TNF-a, liberados por las células en el proceso de apoptosis. Es entonces cuando la DC madura completamente, emigra a áreas donde las células T están siendo drenadas por los órganos linfoides. En este momento, estas células activan a los linfocitos T específicos para antígenos de células que están en el proceso de apoptosis. Entonces la

activación autorreactiva de los CD4+Th intervienen en la secreción de anticuerpos por las células autorreactivas b.

La "tercera situación" y sobre la cual hay expectativas terapéuticas es "la tolerancia". En este momento las DC carecen de señales de maduración o están enfrentadas a señales que interfieren en este proceso, por cuanto la DC ya ha fagocitado células apoptóticas que no maduran. Entonces viene la presentación de epítopes derivados de las células apoptóticas que se han internado, en una DC inmadura, después de haber ocurrido una proliferación inicial y una activación autorreactiva de los linfocitos T.

En resumen, en la tolerancia las células C son activadas por la célula presentadora del antígeno APC, que está en el nódulo linfático y está comprometida también a reconocer los propios antígenos o morir en apoptosis. La falla de la DC para cumplir totalmente su función frente a la respuesta inmune, permite pensar su incapacidad para hacer la presentación del antígeno.

Interacciones entre células en apoptosis y linfocitos

Los últimos descubrimientos en la patogénesis de la diabetes 1 han avanzado significativamente, para explicar la patogénesis y la historia natural de la enfermedad. Los conceptos más llamativos son las propiedades quimioattractoras o quimotácticas de las quimocinas y de sus receptores, producidas por una serie de células en respuesta a la infección viral o bacteriana o por agentes que causan daño físico tisular. No solamente son mediadoras en el reclutamiento de las células sino que la expresión de las moléculas de adhesión y vasoactivas, requiere la presencia de citocinas para promover las interacciones entre los leucocitos y el endotelio vascular. Además las quimocinas promueven la angiogénesis, el desarrollo de los linfocitos y la defensa directa contra la infección.

Hay más de 50 quimocinas identificadas, corrientemente clasificadas en grupos, basados en la posición de los motivos de cisteína, cerca de la porción N terminal de la molécula. Estas dos familias se denominan CC y CXC. Las quimocinas CC tienen dos cisteínas adyacentes cerca del aminoácido terminal, mientras que las quimocinas CXC tienen 2 cisteínas, separadas por otro aminoácido. Las quimocinas CC se ligan a su receptor y se identifican como CCR5 mientras que las quimocinas CXC que se ligan a su receptor están identificadas como CXCR4.

En la literatura de la diabetes 1 la mayoría de los reportes que investigan las quimocinas parten del modelo experimental ratón obeso no diabético (NOD). La asociación de quimocinas con el NOD se identificó en la región central del cromosoma 11 que se denomina gen de la familia de la quimocina b. Estudios posteriores demuestran que la falta de respuesta proliferativa

en el cromosoma 11 del ratón NOD está ligada a una región asociada a la enfermedad, denominada Idd4 a un intervalo de 5.2 cM.

Modelo fisiopatológico actual

Este modelo parte de la pérdida progresiva de la masa betacelular en donde participan en la primera parte del proceso inmune, junto con las interacciones de los genes que imparten susceptibilidad y resistencia a la insulina. Aquí arranca el período anterior a la diabetes. Enseguida entran en función los factores ambientales que disparan el proceso de insulinitis la cual varía según la sensibilidad de la célula β para resistir a la agresión de la autoinmunidad. En este momento hay una mayor reducción de la masa insular, que ocurre en el curso de un tiempo no determinado y es cuando aparecen los anticuerpos ya mencionados, IAA, GADA, ICA512A, ICA. Es entonces cuando se pierde la primera fase de respuesta a la secreción de insulina por el estímulo intravenoso de tolerancia a la glucosa, y viene la intolerancia en ayunas o en la curva de tolerancia con desaparición del péptido C y la inmediata iniciación de la diabetes.

La genética de la diabetes 1 no puede ser clasificada según un modelo específico dominante o recesivo. El gen más importante está localizado en el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), HLA moléculas clase II, cromosoma 6P21 que da el 45% de susceptibilidad para la enfermedad. La importancia del haplotipo clase II no solamente depende del riesgo asociado a la enfermedad con HLA/DR3 y HLA/DR4 sino también con otras cadenas adicionales de susceptibilidad DQA y DQB. La diabetes tipo 1 es una alteración heterogénea y poligénica, con un número de locis mayor a 20 identificados.

Los factores ambientales se clasifican en tres grupos: las infecciones por virus, entre ellos el virus Cocksakie y el Citomegalovirus, la alimentación infantil con leche de vaca muy precoz, sin embargo este hallazgo es controvertido. Las toxinas, especialmente las nitrosaminas y sus derivados. Como factores no genéticos se menciona el estrés psicológico, la administración de vacunas y algunas influencias climáticas. Lo más probable es que los factores ambientales sean los que modifican la patogénesis de la enfermedad, en oposición al pensamiento que postulaba que estos factores actuaban como desencadenantes en individuos susceptibles genéticamente.

Recientemente se ha investigado que múltiples infecciones en los primeros años de vida, reducen el riesgo de diabetes tipo 1, lo mismo que las enfermedades perinatales y la influencia que tienen las infecciones para el desarrollo del sistema inmune. Sin embargo, la exposición a un agente particular ambiental puede promover o atenuar la enfermedad, todo depende de la cantidad de exposiciones al factor implicado. Este

concepto podría explicar parcialmente por qué se ha aumentado dramáticamente la diabetes en las últimas tres décadas, gracias al progreso en los sistemas de salud pública en determinadas comunidades.

Patogénesis de la diabetes 1

Esta entidad no está limitada al joven, sino que puede ser también prevalente en los adultos y, particularmente, en los jóvenes adultos. Sin embargo, los últimos estudios afirman que el modelo puede aparecer a cualquier edad, hasta el punto de que del 5 al 30% de los diabéticos diagnosticados como tipo 2, en realidad tienen diabetes 1.

Para las aplicaciones clínicas es preciso tener en cuenta la determinación de los anticuerpos que identifican la enfermedad meses y años antes que aparezcan los síntomas clínicos, por una serie de marcadores inmunológicos, tales como los anticuerpos ya mencionados GAD, ICA, IAA, que van desapareciendo a medida que avanza la insulinitis para la destrucción total del islote. Por otra parte la obtención de agentes que interrumpen específicamente los procesos autoinmunes a nivel local, es muy limitada como potencial terapéutico y puede ser este el caso respecto a las quimocinas y a sus receptores. A esto se suma que los linfocitos TH1 asociados a las células T periféricas, están reducidos en un estrecho margen en el tiempo y el diagnóstico de la diabetes, muy posiblemente por la extravasación en el páncreas inflamado. Por esta razón se hace necesario un examen longitudinal de las quimocinas y de los receptores de las mismas, en el período que precede en la historia natural de la diabetes y entonces será posible probar un método de diagnóstico exacto y oportuno.

Sin embargo, ensayos cuantitativos con alta especificidad y sensibilidad, están a disposición para ser detectados oportunamente, en particular GAD65, ICA512/IA2A. Pese a todos los esfuerzos el anticuerpo anti-islotes es muy difícil de estandarizar y de reproducir.

Para complementar nuestra incapacidad de predecir y prevenir la enfermedad por la falta de elementos terapéuticos seguros que representen una seguridad tanto para aquellos que van a desarrollar la enfermedad, como para quienes nunca la van a sufrir. Cualquier modelo tiene sus ventajas y sus debilidades en término de intervención terapéutica para decidir una terapia libre de efectos adversos y que sea capaz de interrumpir el proceso autoinmune y actuar sobre los agentes ambientales, especialmente se debe tener en cuenta qué población en verdadero riesgo puede recibir una acción costo efecto beneficioso para cubrir quizá el 85% de individuos diabéticos. 1 sin historia familiar de diabetes. Dos estudios con nicotinamida, el uno europeo de ENDIT han enrolado el primero, 550 individuos con parientes diabéticos. 1 asignados un grupo

a la nicotinamida y el otro, a placebo y el segundo en los Estados Unidos DPT/1. Estos ensayos no han sido de un efecto preventivo de la enfermedad.

Hasta aquí se han establecido los conceptos y parámetros sobre los cuales descansan la prevención tanto de la diabetes 2 como de la diabetes 1. Descartada la posibilidad a corto plazo de prevenir el tipo 1, sí es posible homologar las conductas de atención oportuna en la prevención de las complicaciones específicas, evidentes en la diabetes 2. Muchas veces se enfrenta el médico a hechos derivados de factores bioquímicos, metabólicos, biomoleculares y en alguna forma, inmunogénicos, que conducen al desarrollo de las complicaciones microvasculares, por el progreso de la resistencia a la insulina, que de por sí es un factor de riesgo de la enfermedad microvascular, cuyos factores químico-moleculares están bastante esclarecidos mediante investigaciones que tienen valor trascendental. Este es un modelo que se ve con optimismo terapéutico, gracias a las medidas de estricto control, de diagnóstico oportuno y de prevención de la diabetes 2, en periodos reversibles.

Para la diabetes 1, en donde las enseñanzas que nos dan los estudios epidemiológicos, inmunogénicos y los mecanismos moleculares que los cubren, es posible concebir una intervención precoz para salvaguardar las reservas no solo de la masa insular, sino de todas las vías que se afectan por la toxicidad de la glucosa, en los trastornos que tienen cada día mejor explicación y que llevan al daño irreversible microvascular.

Al pretender integrar estos dos modelos fisiopatogénicos en el curso del daño microvascular de la diabetes, solo pienso en lo que fue para mí una frustración profesional hace cinco décadas en que tan solo se tenían como arma terapéutica la aplicación de la insulina y el uso inicial del tratamiento con sulfodrogas y la atención completa e integral del diabético descubierta por quienes recibieron el galardón del Premio Nóbel y la iniciación de la mayor obra mundial para atender, educar y tratar al enfermo con diabetes.

Posibilidades terapéuticas con antioxidantes mitocondriales

Por cuanto el daño oxidativo es parte de la patogenia de la diabetes, es lógico que los antioxidantes tengan potencial terapéutico. Los compuestos naturales tales como el atocoferol, el ascorbato, la coenzima Q y el ácido lipoico, no tienen una definida acción, aunque administrados en dosis altas hayan demostrado efectividad en otras entidades.

Experimentalmente demuestran que tanto la vitamina E como la coenzima Q protegen a la mitocondria contra la toxicidad del O₂ y que la acumulación de los mismos por el organelo aislado aumentan la eficacia de su acción. Se ha comprobado que el com-

puesto alquiltrifenilfosfonio atraviesa las dos capas de la membrana mitocondrial, sin requerir transportadores o moléculas de acoplamiento. Así mismo el metiltrifenilfosfonio no se acumula y es depurado; ha sido cuantificado en otros tejidos: cerebro, miocardio e hígado en el ratón y desaparece de la circulación una vez suspendida su administración. Es importante decir que las concentraciones de estos componentes en la mitocondria, es centenares de veces superior, de las cantidades presentes en el citosol.

Hasta el presente diversos protocolos estudian in vivo los compuesto antioxidantes en modelos experimentales con daño mitocondrial.

Conclusiones

En conclusión, el propósito de esta revisión ha sido presentar un aspecto optimista para quienes ven a la diabetes como una enfermedad con un pronóstico cada vez menos próximo a la curación y a la prevención. Pero el progreso no puede detenerse. Gracias a que el mundo científico está cada vez más concentrado en la investigación básica y a la aplicación de sus resultados, diversas oportunidades se pueden ofrecer al enfermo.

Como resumen se analizaron los estudios epidemiológicos, la patogénesis, las bases químicas y los mecanismos biomoleculares que llevan al daño vascular prematuro en la intolerancia a la glucosa, cuando aún no se ha detectado en el individuo una glicemia que lo catalogue como diabético tipo 2, a saber:

1. Las alteraciones microvasculares en la intolerancia a la glucosa en dos estudios controlados.
2. El stress oxidativo por la hiperglicemia y sus consecuencias sobre el daño celular.
3. Los mecanismos en las vías del poliol y la hexosamina en la generación de radicales de oxígeno tóxicos.
4. La participación y modo de acción de los productos de glicosilación avanzada (AGEs) en el daño microvascular.
5. La activación de la proteínaquinasa C por el diacilglicerol en la alteración de la curva de tolerancia a la glucosa y los mecanismos que conducen a una serie de eventos biomoleculares.
6. La participación de la mitocondria en la producción de O₂ y la utilización de antixodantes en este proceso.
7. Las posibles intervenciones y progresos en el período anterior a la aparición de la diabetes 2.

Bibliografía

1. Hamis MI, Klein R, Wellborn TA, Knudman MW: Onset of NIDDM occurs at least 4-7 years before clinical diagnosis. *Diabetes Care* 15:815-819, 1992.
2. *Diabetes Care* 20: 1183-99, 1997.
3. Reaven G. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37:1595-1607, 1988 .
4. DeFronzo, RA, Ferrannini E. Insulin Resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care*14:173-194, 1991.
5. Alberti KGMM, Zimmet PZ for the WHO consultation. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. *Diabetes Med* 15:539-553, 1998.
6. Sinha R, Fisch G, Teague B, Tamborlane WW et al. Prevalence of impaired glucose tolerance among children and adolescents with marked obesity. *N Engl J Med* 346:802-810, 2002.
7. Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *The New Engl J of Med* 346:393-403, 2002.
8. Mykkanen L, Haffner SM, Kuusisto J, et al. Microalbuminuria precedes the development of NIDDM. *Diabetes* 43:552 – 557; 1994.
9. Klein R, Barrett-Connor EL, Blunt BA, Wingard DL. Visual impairment and retinopathy in people with normal glucose tolerance, impaired glucose tolerance, and newly diagnosed NIDDM. *Diabetes Care* 14:914-918,1991.
10. Pan XR, Hu YH, Li GW, Liu PA, Bennett PH, Howard BV: Impaired glucose tolerance and its relationship to ECG-indicated coronary heart disease and risk factors among Chinese. Da Qing IGT and diabetes study. *Diabetes Care* 16:150-156, 1993.
11. Metcalf PA, Baker JR, Scragg RK, Drson E, Scott AJ, Wild CJ: Microalbuminuria in a middle-aged workforce: effect of hyperglycemia and ethnicity. *Diabetes Care* 16:1485-1493, 1993.
12. Mogensen C: Microalbuminuria predicts clinical proteinuria and early mortality in maturity-onset diabetes. *N Engl J Med* 310:356-360, 1984.
13. Wei M, Gaskil SP, Haffner SM & Stern, MP. Effects of diabetes and level of glycemia on all-cause and cardiovascular mortality. *The San Antonio Heart Study. Diabetes Care* 7, 1167-1172, 1998.
14. Ebara T. et al. Delayed catabolism of apob-48 lipoproteins due to decreased heparan sulfate proteoglycan production in diabetic mice. *J Clin Invest* 105, 1807-1818, 2000.
15. Ginsberg HN. Insulin resistance and cardiovascular disease. *J Clin Invest* 106, 453-458, 2000.
16. Wilkin TJ: The accelerator hypothesis: weight gain as the missing link between type 1 and type 2 diabetes. *Diabetologia* 44:914-922, 2001.
17. Libman I, Arslanian S: Type 2 diabetes in childhood: The American perspective. *Horm Res* 59 (Suppl. 1):69-76, 2003.
18. Weets I, Van Autreve J, Van der Auwera BJ et al. Male-to-female excess in diabetes diagnosed in early adulthood is not specific for the immune-related form, nor is it HLA-DQ restricted: possible relation to increased body mass index. *Diabetologia* 44:40-47,2001.
19. Clausen JO, Borch-Johnsen K, IbsenH et al: Insulin sensitivity index, acute insulin response and glucose

- effectiveness in a population-based sample of 380 young healthy Caucasians: analysis of the impact of gender, body fat, physical fitness and lifestyle factors. *J Clin Invest* 98:1195-1209, 1996.
20. Kibirige M, Metcalf B., Renuka R. Et al: Testing the accelerator hypothesis. *Diabetes Care* 26:2865-2870,2003.
 21. Ingawa A, Hanafusa T, Miyagawa JI, Matszawa Y: A novel subtype of Type 1 diabetes mellitus characterized by a rapid onset and an absence of diabetes-related antibodies. *N Engl J Med* 342:301-07, 2000.
 22. Horton V, Stratton I, Bottazzo GF et al: Genetic heterogeneity of autoimmune diabetes: age of presentation in adults is influenced by HLA DRB1 and DQB1 genotypes (UKPDS 43). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Diabetologia* 42, 608-16, 1999 .
 23. Ross R: The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 362:801-809, 1993.
 24. Hu FB, Stampfer MJ: Is type 2 diabetes mellitus a vascular condition? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23:715-1716, 2003.
 25. Jiang ZY et al. Characterization of selective resistance to insulin signaling in the vasculature of obese Zucker (fa/fa) rats. *J Clin Invest* 104, 447-457, 1999.
 26. Singleton RJ, Smith GA, Russell JW, Feldman EL: Microvascular complications of impaired glucose tolerance. *Diabetes* 52:2867-2873, 2003.
 27. Brownlee M: Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 414:813-820, 2001
 28. Williamson JR et al: Hyperglycemic pseudohypoxia and diabetic complications. *Diabetes* 42,801-813, 1993
 29. Greene DA, Arezzo JC & Brown MB: Effect of aldose reductase inhibition on nerve conduction and morphometry in diabetic neuropathy. Zenarestat study group. *Neurology* 53, 580-591, 1999.
 30. Thornalley PJ: The glyoxalase system: new developments towards functional characterization of a metabolic pathway fundamental to biological life. *Biochem J* 269, 1-11, 1990
 31. Degenhardt TP, Thorpe SR & Baynes JW: Chemical modification of proteins by methylglyoxal. *Cell Mol Biol.* 44, 1139-1145, 1998.
 32. Tanaka S, Avigad G, Brodsky B & Eikenberry EF: Glycation induces expansion of the molecular packing of collagen. *J Mol Biol* 203, 495-505, 1988.
 33. Haitoglou CS, Tsilibary EC, Brownlee M & Charonis AS: Altered cellular interactions between endothelial cells and nonenzymatically glycosylated laminin/type IV collagen. *J Biol Chem* 267,12404-12407, 1992.
 34. Nepper M et al: Cloning and expression of RAFE: a cello surface receptor for advanced glycosylation end products of proteins. *J Biol Chem* 267, 14998-15004, 1992.
 35. Yan SD et al: Enhanced cellular oxidant stress by the interaction of advanced glycation end products with their receptors/binding proteins. *J Biol Chem* 269, 9889-9897, 1994.
 36. Ishii H et al: Amelioration of vascular dysfunctions in diabetic rats by an oral PCK beta inhibitor. *Science* 272, 728-731, 1996.
 37. Kuboki K et al: Regulation of endothelial constitutive nitric oxide synthase gene expression in endothelial cells and in vivo a specific vascular action of insulin. *Circulation* 101, 676-681, 2000.
 38. Williams B, Gallacher B, Patel H & Orme C: Glucose-induced protein kinase C activation regulates vascular permeability factor mRNA expression and peptide production by human vascular smooth muscle cells in vitro. *Diabetes* 46, 1497-1503, 1997.
 39. Koya D et al: Characterization of protein kinase C beta isoform activation on the gene-expression of transforming growth factor-beta, extracellular matrix components, and prostanooids in the glomeruli of diabetic rats. *J Clin Invest* 100, 115-126, 1997.
 40. Feener EP et al: Role of protein kinase C in glucose and angiotensin II-induced plasminogen activator inhibitor expression. *Contrib Nephrol* 118, 180-187, 1996.
 41. Klom-Litty V, Sauer U, Nerlich A, Lehmann R & Schleicher ED: High glucose-induced transforming growth factor beta1 production is mediated by the hexosamine pathway in porcine glomerular mesangial cells. *J Clin Invest* 101, 160-169, 1998.
 42. Du et al: Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. *PNAS* 97 No. 22,12222-12226,2000
 43. Nikishikawa T et al: Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycemic damage. *Nature* 404, 787-790, 2000
 44. Castano L, Eisenbarth GS: Type 1 diabetes: A chronic autoimmune disease of human, mouse, and the rat. *Annu Rev Immunol* 8:647-79, 1990
 45. Atkinson MA, Maclaren NK. The pathogenesis of insulin dependent diabetes. *N Engl J Med* 331:1428-36, 1994
 46. LaPorte RE, Tajima N, Kerblom HK, et al. Geographic differences in The risk of insulin-dependent diabetes mellitus: the importance of registries. *Diabetes Care* 8(suppl): S101-07, 1985.
 47. Anonymous. EURODIAB ACE Study Group. Variation and trends in incidence of childhood diabetes in Europe. *Lancet* 355:873-76, 2000.
 48. Onkamo P, Vonnen S, Karvonen M, et al: Worldwide increase in incidence to type 1 diabetes - the analysis of the data on published incidence trends. *Diabetologia* 42:1395-1403, 1999.
 49. Caux C, Vanbervliet B, Massacrier C, et al: CD34+ hematopoietic progenitors from human cord blood differentiate along two independent dendritic cell pathways in response to GM-CSF+TNF α . *J Exp Med* 184:695-706, 1996.
 50. Banachereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 392:245-52, 1998.
 51. Thomas R, Lipsky PE. Presentation of self peptides by dendritic cells: possible implications for the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 39:183-190, 1996.

52. Todd JA. From genome to aetiology in a multifactorial disease, type 1 diabetes. *BioEssays* 21:64-74, 1999.
53. Buzzetti R, Quattrocchi CC, Nistico L. Dissecting the genetics of type 1 diabetes: relevance familial clustering and differences in incidence. *Diabetes Metab Rev* 14:111-28, 1998.
54. Lernmark A, Ott J. Sometimes it is hot, sometimes it is not. *Nat Genet* 19:213-14, 1999.
55. Ellis TM, Atkinson MA. Early infant diets and insulin-dependent diabetes. *Lancet* 347:1464-65, 1996.
56. Dahlquist GG. Viruses and other perinatal exposures as initiating events for beta-cell destruction. *Ann Med* 29:413-17, 1997.
57. Knip M, Akerblom HK. Environmental factors in the pathogenesis of type I diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 107(Supp):S93-100, 1999.
58. Eisenbarth GS. Type 1 diabetes mellitus. A chronic autoimmune disease. *N Engl J Med* 314:1360-68, 1986.
59. Serreze DV, Ottendorfer EW, Ellis TM et al. Acceleration of type 1 diabetes by a coxsackie-virus infection requires a preexisting critical mass of autoreactive T-cells in pancreatic islets. *Diabetes* 49:708-11, 2000.
60. Zimmet PZ, Tuomi T, Macaky IR et al. Latent autoimmune diabetes mellitus in adults (LADA): the role of antibodies to glutamic acid decarboxylase in diagnosis and prediction of insulin dependency. *Diabet Med* 11:299-303, 1994.
61. Turner R, Stratton I, Horton V et al. UKPDS 25: autoantibodies to islet-cell cytoplasm and glutamic acid decarboxylase for prediction of insulin requirement in type 2 diabetes. UK Prospective Diabetes Study Group. *Lancet* 350:1288-93, 1997.
62. Knip M, Douek IF, Moore et al. Safety on high-dose nicotinamide: a review. Endit Group. European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial. *Diabetologia* 43:1337-45, 2000.
63. DPT-1 Study Group. The Diabetes Prevention Trial-Type 1 diabetes (DPT-1): implementation of screening and staging of relatives. *Transplant Proc* 27:3377,1995.