

11227  
201. 22  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**PATOGENESIS  
DE LAS  
COMPLICACIONES TARDIAS  
DE LA  
DIABETES MELLITUS**

TESIS QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA  
PRESENTA LA  
DRA ANA MARIA DOLORES GOMEZ NORIEGA

  
DR. ALBERTO LIFSHITZ-GUINZBERG

JEFE DEL CURSO DE MEDICINA INTERNA

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

  
DRA. NORMA JUAREZ DIAZ

JEFE DE INVESTIGACION Y ENSEÑANZA

HOSPITAL DE ESPECIALIDADES

CENTRO MEDICO NACIONAL

MEXICO, D. F.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

1989



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# I N D I C E

INTRODUCCION .....	1
PREVALENCIA DE LAS COMPLICACIONES TARDIAS DE LA DIABETES MELLITUS .....	3
IMPORTANCIA DE LA ALDOSA REDUCTASA.....	8
HIPOTESIS OSMOTICA DE LA FORMACION DE CATARATAS .....	11
RUTA DE LOS POLIOLES Y OTRAS COMPLICACIONES OCULARES.....	13
RELACION DE LA ALDOSA REDUCTASA Y EL MIO-INOSITOL .....	15
RELACION DE LA RUTA DE LOS POLIOLES, MIO-INOSITOL Y ATPasa-Na,K.....	18
GLUCOSILACION NO ENZIMATICA DE PROTEINAS .....	20
ENTRECruzAMIENTO DE PROTEINAS .....	24
RELACION DE LOS PRODUCTOS TERMINALES DE GLUCOSILACION AVANZADA Y LA ATEROESCLEROSIS .....	28
ALTERACION DE LAS PROTEINAS CON ACTIVIDAD ENZIMATICA .....	30

OBSTRUCCION VASCULAR Y AUMENTO EN LA PERMEABILIDAD .....	32
INCREMENTO EN LA PERMEABILIDAD VASCULAR .....	37
MICROANGIOPATIA DIABETICA .....	39
PATOGENESIS DEL DAÑO MICROCIRCULATORIO .....	41
NEUROPATIA DIABETICA.....	47
FISIOPATOLOGIA DE LA NEUROPATIA DIABETICA .....	52
NEFROPATIA DIABETICA .....	58
FISIOPATOLOGIA DE LA NEFROPATIA DIABETICA .....	63
BIBLIOGRAFIA .....	68

## I N T R O D U C C I O N

La Diabetes Mellitus ha sido definida como un síndrome, causado por alteraciones en el metabolismo de la glucosa, que presenta un grupo heterogéneo de desórdenes bioquímicos y anatómicos y tendencia a desarrollar complicaciones a largo plazo.

En años recientes, la importancia de la hiperglucemia en la patogénesis de las complicaciones tardías secundarias a Diabetes Mellitus, ha sido puesta en duda; el papel del sorbitol, el mio-inositol y sus fosfolípidos han surgido como la clave fundamental en la regulación del metabolismo, y así mismo se han constatado las importantes alteraciones a nivel vascular y tisular provocadas por la glucosilación no enzimática de las proteínas.

La patogénesis en las complicaciones tardías de la diabetes mellitus se considera actualmente, como un fenómeno sumamente complejo que involucra diversos factores tales como la hiperglucemia, la deficiencia de insulina, factores genéticos, ambientales y otros aún no bien definidos, los que interreactúan entre sí para producir una serie de eventos encadenados que conducen al desarrollo de alteraciones

metabólicas y estructurales, que finalmente culminan en la manifestación de enfermedad clínica como retinopatía, nefropatía, neuropatía, etc. (1.3)

Se han postulado 4 tesis que intentan vincular la hiperglucemia y el desarrollo de las complicaciones tardías de la diabetes mellitus, éstas son:

1. Incremento en la actividad de la ruta de los polioles, con una subsecuente acumulación de sorbitol y fructuosa en los tejidos.
2. Disminución en la concentración del mio-inositol que resulta en alteraciones del metabolismo de los fosfo-inositoles.
3. Alteraciones en la permeabilidad de los pequeños vasos sanguíneos.
4. Glucosilación no enzimática de proteínas con alteración en su estructura y función.

Las dos primeros mecanismos tienen en común que pueden ser bloqueados por inhibidores de la aldosa-reductasa. (1.4,14,15)

PREVALENCIA DE LAS COMPLICACIONES TARDIAS  
DE LA DIABETES MELLITUS

Se ha estimado que en Estados Unidos existen 6 millones de personas diabéticas y que aún existen 4 millones de diabéticos no diagnosticados; en México la cifra exacta no se conoce, pero se sabe que también es alta, sobre todo la de diabéticos no diagnosticados y cuyo diagnóstico se hace en etapas avanzadas, cuando por presentar ya las manifestaciones de una complicación tardía como retinopatía o nefropatía acuden al médico, siendo muy tarde para ofrecer al paciente una ayuda verdadera.

Las complicaciones tardías de la diabetes mellitus afectan principalmente a los ojos, riñones, nervios, y vasos sanguíneos de pequeño y gran calibre. El daño a nivel ocular en los pacientes diabéticos insulino dependientes y no insulino dependientes incluye la córnea, el cristalino y la retina, ésta última la de mayor importancia por su trascendencia. La ceguera en el paciente diabético es 25 veces más frecuente que en la población general debido a la retinopatía proliferativa; aproximadamente el 5% de pacientes con diabetes mellitus de 20 años de evolución tienen importante disminución de la agudeza visual y 12% cataratas.

Las cataratas ocurren a una edad mas temprana en pacientes diabéticos, siendo 5 veces mas frecuente que en la poblacion general. (2,17)

El daño en los pequeños vasos glomerulares conduce a la falla renal la cual es 17 veces mas frecuente que en pacientes control. La Diabetes Mellitus es la causa mas importante de insuficiencia renal crónica en los Estados Unidos; se ha calculado que aproximadamente un 40 a 50% de pacientes con Diabetes Mellitus Insulinodependiente después de 15 años de evolucion, desarrollarán nefropatia diabética, y de éstos, el 66% desarrollarán falla renal terminal. En la Diabetes Mellitus no Insulinodependiente la nefropatia diabética es menos frecuentes y se presenta mas tardiamente, calculandose la cifra en aproximadamente el 15% de los pacientes. En México desgraciadamente la cifra exacta no se conoce, pero seguramente estos porcentajes son mayores . (2, 7,72)

En un estudio del Steno Memorial Hospital en Dinamarca, de 1475 pacientes con Diabetes Mellitus Insulinodependiente, con un seguimiento de 25 años o hasta su fallecimiento, desarrollaron nefropatia el 45%, con una prevalencia máxima del 31% despues de los 20 a 25 años de ser diabéticos, declinando la frecuencia posteriormente, despues de los 35 años aproximadamente al 4%. Mas de la mitad de estos pacientes

estudiados no desarrollaron nefropatía: la razón de esto aún permanece obscura, observándose que el control de la glucosa parece no ser la única causa que retarda su desarrollo (72).

La cardiopatía isquémica se observa en el 60% de los adultos diabéticos y en el 15% de los jóvenes diabéticos menores de 25 años y el riesgo de morir por infarto agudo al miocardio es el doble que para la población general. Cerca del 45% de los adultos con Diabetes Mellitus por mas de 20 años tienen aterosclerosis detectable en las extremidades inferiores, lo cual explica el porqué casi la mitad de las amputaciones no traumáticas en adultos de Estados Unidos son realizadas en pacientes diabéticos. Sin embargo en estos casos la neuropatía diabética es un factor que también contribuye en forma importante por la pérdida de respuesta a la presión normal o a los traumatismos junto con la susceptibilidad a las infecciones.

La neuropatía diabética es una de las complicaciones diabéticas mas difíciles para obtener datos epidemiológicos confiables, por su gran diversidad en la forma de presentación; es la causa principal de dolor, diarrea, impotencia sexual e hipotensión postural; contribuye en forma importante al fallecimiento por infarto miocárdico cuando éste se presenta en forma silenciosa; muy probablemente influye también en las infecciones de vías urinarias por reflujo

vesicoureteral e incrementa el riesgo de hipoglicemia en pacientes tratados con insulina debido a alteraciones en la regulación neurohumoral. (2. 15.17)

La prevalencia en la neuropatía puede variar de acuerdo al método de evaluación empleado, por ejemplo, al inicio de la diabetes generalmente no hay síntomas, o bien, puede haber algunos signos o síntomas leves de dolor o alteraciones de sensibilidad en el 10% de los pacientes, sin embargo al practicarseles electromiografía a los mismos pacientes se pueden encontrar alteraciones en la conducción nerviosa hasta en el 80%. A los 30 años de haber padecido la enfermedad se encuentran signos y síntomas de neuropatía ya sea autonómica y/o periférica en el 50% de los pacientes. (2,15,16,17)

Un estudio realizado por Pirart que consistió en observar la evolución de 4400 pacientes diabéticos durante un lapso de 25 años, reporta una prevalencia de retinopatía diabética de 60%, de neuropatía en el 50% y de nefropatía en el 20%. En los pacientes en los que se consideró que habían tenido un buen control metabólico durante los 25 años del estudio se encontró una prevalencia de neuropatía solo de un 10 a 15%, mientras que en los pacientes con un pobre control, la prevalencia fue entre un 60 a 70%. La nefropatía diabética no se presentó en los pacientes que tuvieron un buen control metabólico durante el periodo de estudio, mientras que el 30% de los pacientes con un pobre control sí la desarrolló. El hallazgo mas

impresionante fué la diferencia que se encontró en la prevalencia de la retinopatía proliferativa, la cual estuvo ausente después de 25 años en los pacientes que se mantuvieron bien controlados, presentandola el 20% de los pacientes con mal control metabólico. (18)

### IMPORTANCIA DE LA ALDOSA REDUCTASA

La aldosa-reductasa es una enzima específica que convierte la galactosa en galactisól; sin embargo, cuando existe exceso de glucosa en los tejidos como en la hiperglucemia, interviene también en la conversión de la glucosa en sorbitol.



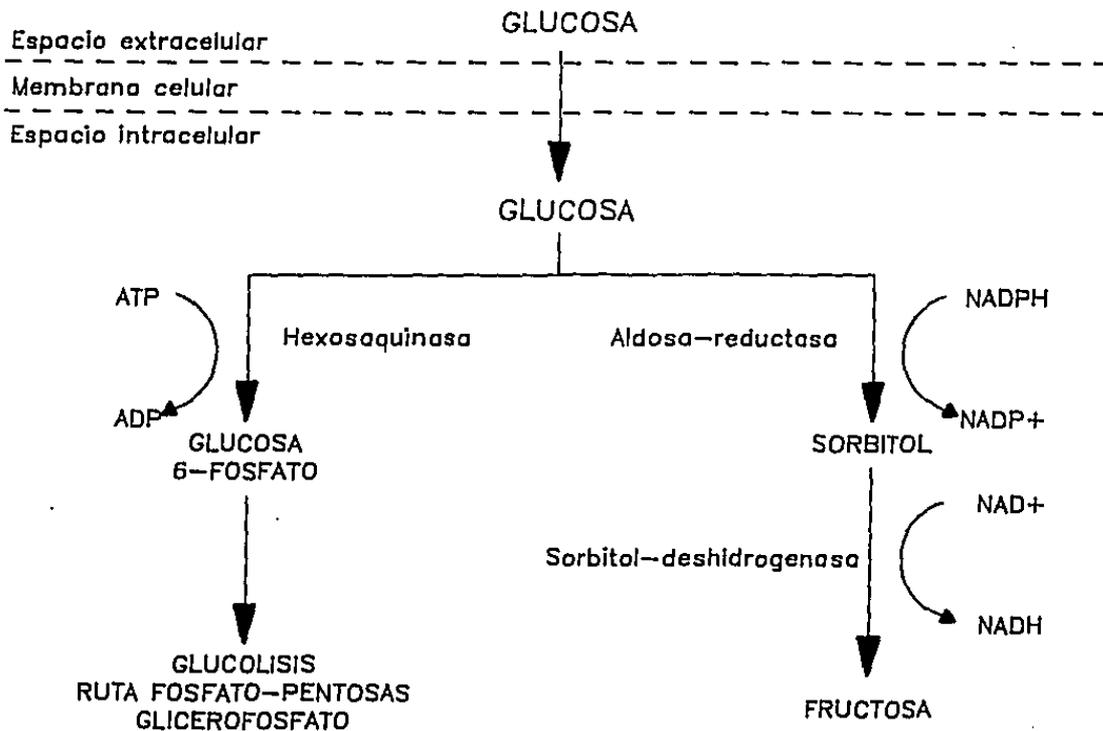
En exceso de glucosa, ésta actúa como sustrato para la aldosa-reductasa.



La aldosa reductasa tiene mayor especificidad para la galactosa, pero los altos niveles de glucosa saturan la vía metabólica normal de ésta que es la de la hexosaquinasa, lo que hace que se desvie el metabolismo hacia la ruta de la aldosa-reductasa, aumentando la actividad de ésta, con un

incremento importante en la concentración de sorbitol y fructosa a los que se les llama polioles (azúcares polialcoholes). Aunque las membranas celulares son libremente permeables a la glucosa, la fructosa y el sorbitol no pasan fácilmente a través de ellas, acumulándose dentro de la célula.

La importancia de tal acumulación de polioles es debida a su fuerte poder osmótico que produce hipertonicidad, retención de agua con edema y otras alteraciones bioquímicas por disminución del NADPH dentro de la célula afectada.



Esta ruta metabólica está presente en casi todos los tejidos susceptibles a desarrollar complicaciones tardías de la diabetes mellitus, y utilizando técnicas inmunohistoquímicas se ha podido localizar a la aldosa-reductasa en la córnea, el cristalino, la retina, etc. incluyendo los que se muestran a continuación. (3,6)

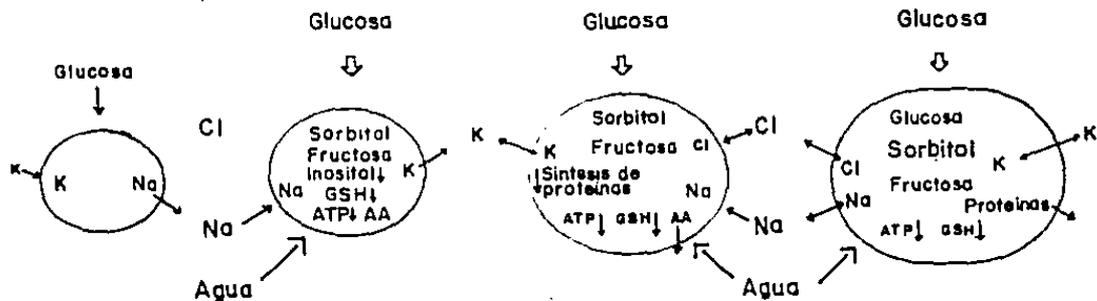
Ojo	{	Cornea	Epitelio y endotelio
		Conjuntiva	Células basales
		Retina	Células ganglionares, células de Müller y células murales de capilares retinianos
		Cristalino	Epitelio
Nervios	{	Periféricos	Células de Schwann
		Nervio óptico	Axones con vaina de mielina
Riñón	{	Glomerulo	Podocitos
		Médula	Asa de Henle, túbulos

## HIPOTESIS OSMOTICA DE LA FORMACION DE CATARATAS

En 1965, Kinoshita propuso una teoría osmótica para explicar la formación de cataratas: ésta se inicia con un aumento en la concentración de glucosa dentro del cristalino, lo que activa a la aldosa reductasa, obteniéndose un incremento en la producción de polioles (sorbitol y fructosa); éstos, por su elevado poder osmótico producen influjo de líquidos al interior del cristalino, con cambios en la permeabilidad de la membrana. Conforme el cristalino empieza a edematizarse, la permeabilidad de la membrana aumenta, produciéndose incremento en la entrada de Na y Cl y salida de K, pérdida de aminoácidos, inositol y glutatión; así como disminución de ATP, lo que conduce a un gran desequilibrio bioquímico interno.

Al persistir la hiperglucemia el proceso se perpetúa, la concentración de polioles, sodio y cloro se hace cada vez mayor, las fibras edematizadas del cristalino comienzan a romperse y formar vacuolas, la síntesis de proteínas se detiene, con pérdida del peso seco del cristalino. Finalmente, la opacificación del cristalino progresa a la etapa de catarata nuclear, con ausencia de la integridad osmótica y difusibilidad libre de electrolitos y aminoácidos.  
(7,8,9,10,11)

### Cambios Bioquímicos



GSH = Glutation reducido

AA = Aminoácidos

La evidencia mas convincente del papel de la aldosa-reductasa en la iniciación de la formación de catarata inducida por hiperglucemia, se produjo después del desarrollo de inhibidores de esta enzima. A través de la administración de estos inhibidores, ya sea por via oral, tópica o inyectada, los animales con diabetes o galactosemia, pueden retrasar significativamente o evitar el desarrollo de cataratas. La habilidad para retrasar la formación de cataratas es proporcional a la potencia del inhibidor, la cual ha sido medida, en parte, por la observación de su efectos sobre ratas alimentadas con un nivel de galactosa creciente en su dieta, que ha llegado a ser hasta el 50% de la dieta.(7,8)

## LA RUTA DE LOS POLIOLES Y OTRAS COMPLICACIONES OCULARES

Otra de las complicaciones oculares observadas en la diabetes es la queratopatía, este término es aplicado a cambios en la córnea de pacientes con diabetes y que puede variar desde leves erosiones puntiformes del epitelio, las cuales se observan en el 50% de los pacientes, hasta ulceraciones corneales.

Se observa que los pacientes diabéticos sometidos a manipulaciones oculares en procedimientos como fotocoagulación, vitrectomía o el uso de lentes de contacto, presentan una reepitelización corneal más lenta que los pacientes no diabéticos. Estos defectos en la reepitelización de córneas se observan también en ratas con diabetes o galactosemia. La apariencia opaca o edematosa de las córneas cicatrizadas de ratas diabéticas, sugiere que las células epiteliales están osmóticamente alteradas. El retraso en la reepitelización y la apariencia opaca de las córneas se han podido evitar con la administración oral o tópica de inhibidores de la aldosa-reductasa. (7,8,10)

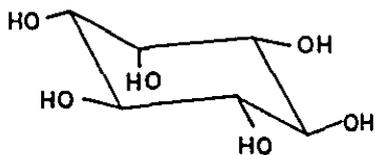
La retinopatía diabética es la complicación ocular más grave de la diabetes de larga evolución, la degeneración selectiva de las células murales más que de las células epiteliales de los capilares retinianos, se considera como el punto

característico de los cambios tempranos vasculares en la retina. Una degeneración similar de células murales simultánea con la formación de microaneurismas y otros signos clínicos de retinopatía se ha producido en perros cuando se alimentan con galactosa. La aldosa-reductasa ha sido localizada histoquímicamente en las células murales de los capilares retinianos, igualmente, se ha localizado acumulaciones de sorbitol en células murales retinianas de mono cultivadas en medios ricos en glucosa; estas células se hidrataron y degeneraron.

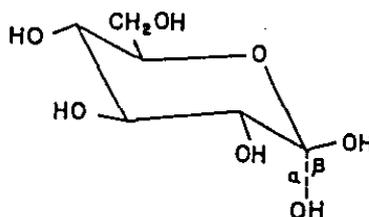
El engrosamiento de la membrana basal de los capilares retinianos es un cambio morfológico común en los tejidos diabéticos y también ocurre en vasos retinianos de animales con diabetes o que están siendo alimentados con galactosa, este efecto puede ser evitado mediante la administración de inhibidores de la aldosa-reductasa.

## RELACION DE LA ALDOSA-REDUCTASA Y EL MIO-INOSITOL

Una segunda anomalía bioquímica en el metabolismo de los tejidos relacionada con la hiperglucemia y la ruta de los polioles involucra al mio-inositol. El mio-inositol es un poliol cíclico de 6 carbonos que está presente en prácticamente todas las células de plantas y animales, el cual tiene una interesante similitud estructural con la glucosa, por lo que en la hiperglucemia, la glucosa funciona como un inhibidor competitivo en el acarreo del mio-inositol hacia el interior de la célula y potencialmente conduce hacia la depleción de mio-inositol intracelular en los tejidos susceptibles a desarrollar complicaciones tardías de la diabetes. (3,4)



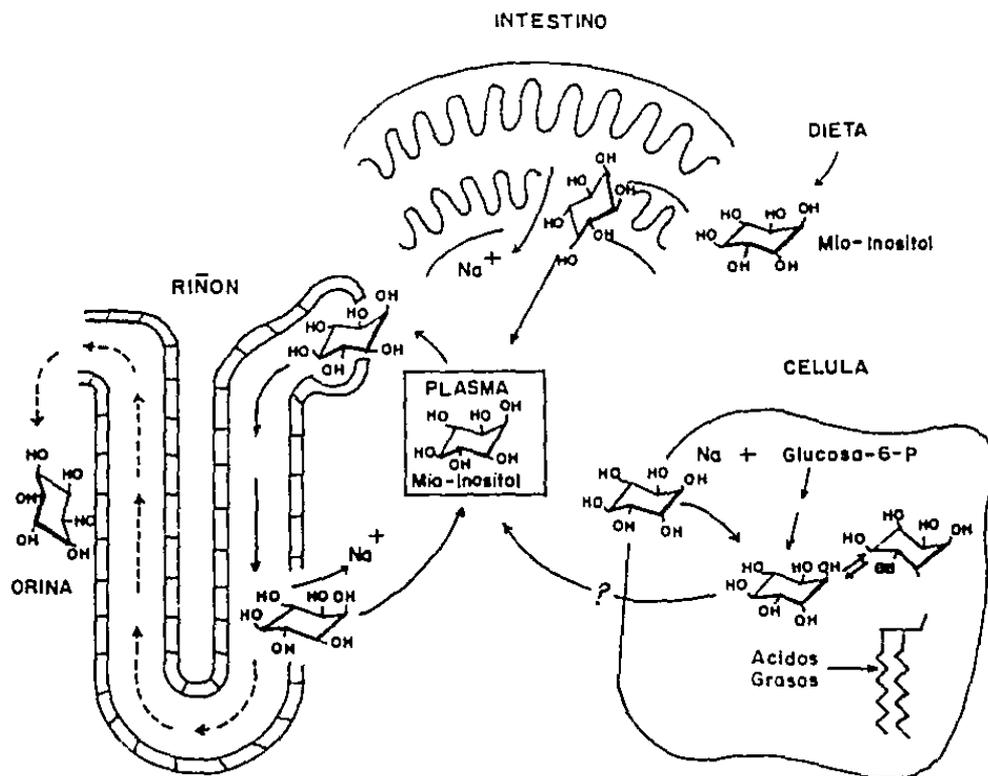
MIO-INOSITOL



GLUCOSA

El mio-inositol, es un constituyente de la dieta normal para la mayoría de los mamíferos, incluyendo al hombre; es absorbido a través de la luz intestinal por acarreadores junto con el sodio, circula en el plasma y al llegar al riñón es filtrado en el glomérulo para luego ser reabsorbido por los

tubulos renales y pasar nuevamente a la circulación. En la hiperglucemia, la glucosa por su similitud química con el mio-inositol compite con éste por el transportador en la membrana tubular renal, impidiendo su reabsorción, produciendo una excreción urinaria aumentada y consecuentemente disminución plasmática. siendo éste un segundo mecanismo para producir depleción intracelular de mio-inositol. (3,4,13)



El principal destino metabólico del mio-inositol dentro de la célula es la incorporación reversible en una clase especial de

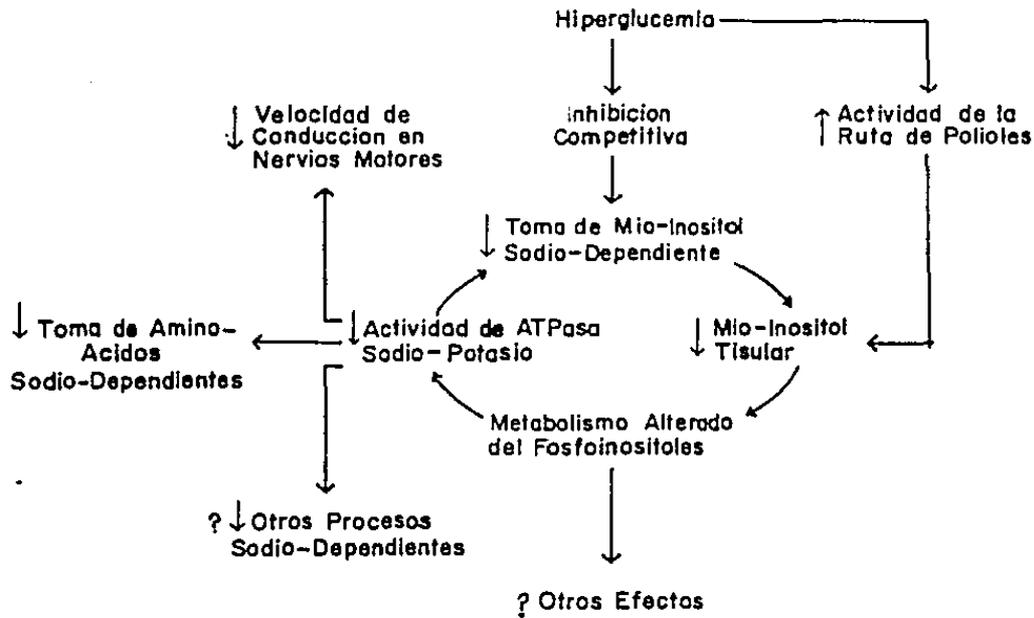
fosfolípidos, los Fosfoinosítoles, estos son: Fosfatidil-inositol, Fosfatidil-inositol-4-fosfato, Fosfatidil-inositol-4-5-difosfato. La hidrólisis de éste último ha sido vinculada a la liberación intracelular de 2 catabolitos que funcionan como mensajeros intracelulares con una importante función reguladora: el diacilglicerol, y el inositol-1,4,5-trifosfato.  
(3,4,13)

RELACION DE LA RUTA DE LOS POLIOLES, MIO-INOSITOL  
Y ATPasa de-Na-K.

La ruta de los polioles y el metabolismo del mio-inositol han sido vinculados también en una relación metabólica que involucra la bomba Adenosin-trifosfatasa de sodio y potasio (ATPasa-Na,K) de tejidos susceptibles a desarrollar complicaciones diabéticas tardías. El metabolismo de la glucosa por la ruta de los polioles produce, por mecanismos aún no bien establecidos, depleción de mio-inositol en la célula, y a su vez, disminución en la producción de sus derivados, los fosfoinositoles, que son sustancias indispensables para la síntesis de membranas celulares y sus enzimas acarreadores incluyendo a la bomba ATPasa-Na,K.

Esta enzima es crucial para la generación de los potenciales electroquímicos necesarios para la conducción nerviosa, así como otras funciones bioquímicas y biofísicas, incluyendo la homeostasis celular de agua y electrolitos y para mantener concentraciones adecuadas de otros sustratos metabólicamente activos. (4,8,13,29)

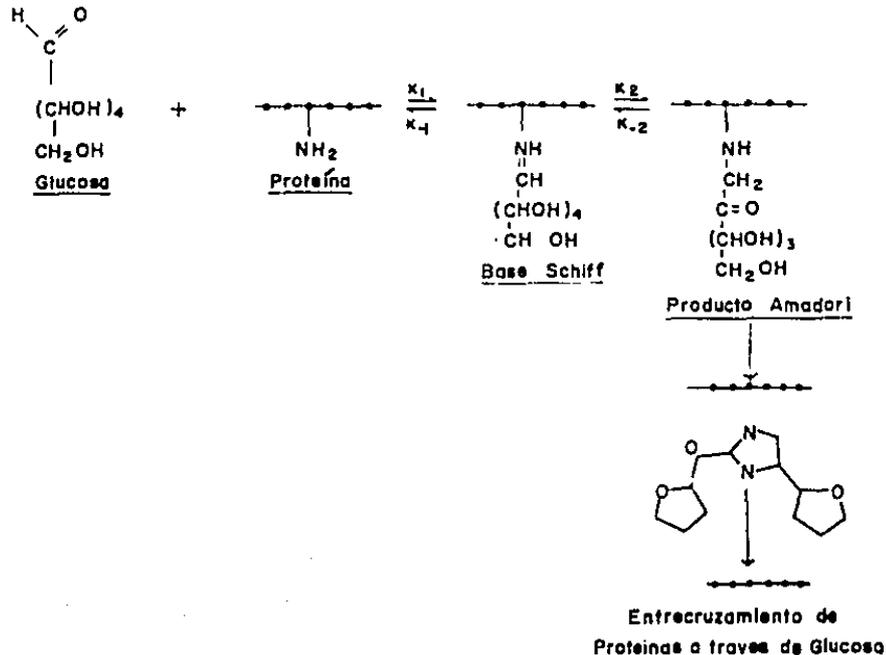
En el siguiente esquema se muestra cómo, la hiperglicemia interfiere con las funciones celulares.



## GLUCOSILACION NO ENZIMATICA DE PROTEINAS

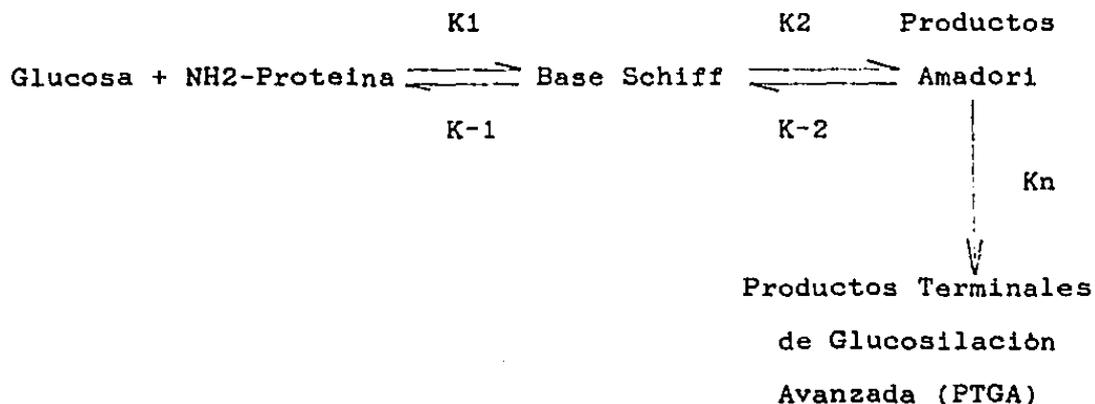
El exceso de glucosa en la sangre de individuos diabéticos inicia el proceso denominado glucosilación no enzimática de proteínas que consiste en la unión de la glucosa a las proteínas sin la participación de enzimas, lo que hace que cambie la esencia química de la proteína glucosilada, su estructura y funcionamiento.

Inicialmente, la glucosa reacciona con los grupos amino-terminal de las proteínas para formar un compuesto químico reversible llamado base Schiff; posteriormente esta nueva molécula sufre modificaciones, se torna más estable pero aún reversible, formándose así los productos terminales de glucosilación temprana, llamados productos Amadori.



Con el tiempo, los productos Amadori continúan sufriendo lentamente nuevas reacciones y rearrreglos, llevándose a cabo uniones covalentes con los grupos amino de otras proteínas, formándose enlaces cruzados intermoleculares, resultando finalmente los productos terminales de glucosilación avanzada (PTGA).

La débil base Schiff alcanza rápidamente un nivel de equilibrio que refleja la concentración de glucosa en suero; la tasa de formación de base Schiff (K1) es aproximadamente igual a la tasa de disociación (K-1). En un periodo de tiempo que puede variar desde horas a semanas, las lentas reacciones químicas llegan a un equilibrio (K2). De igual forma que la base Schiff, la acumulación de productos Amadori no continúa indefinidamente aún cuando las proteínas sean de larga vida, alcanzando su equilibrio en varias semanas hasta llegar a un nivel estable constante. (51,52,53)



En contraste con los productos terminales de glucosilación temprana (productos Amadori), los productos terminales de glucosilación avanzada (PTGA) una vez formados son irreversibles y su acumulación continúa indefinidamente por toda la vida de la proteína produciendo importantes alteraciones en su estructura y por ende en su función, reflejándose estas alteraciones en forma mas importante en las proteínas con vida media prolongada. (52,53).

La acumulación de PTGA en proteínas tales como la colágena ocurre también en circunstancias normales, en personas no diabéticas pero a una tasa mucho mas baja que en enfermos con diabetes, por lo que se observan PTGA en la enfermedad vascular degenerativa asociada con la edad. (51,54,56)

La cantidad de productos terminales de glucosilación avanzada formada, va a depender fundamentalmente de la intensidad de la hiperglucemia y el tiempo que ésta esté presente, acumulándose dentro de la célula insulino-independiente o en el exterior de ésta, sobre las proteínas de la membrana celular, en proteínas circulantes y proteínas estructurales.

Se han identificado hasta el momento un gran número de proteínas que pueden ser afectadas por la glucosilación no enzimática, entre ellas tenemos la hemoglobina que fue una de las primeras proteínas en la que se pudo estudiar este fenómeno; la colágena, de gran trascendencia clínica por su

amplia distribución en el organismo, la albúmina, la mielina, las glucoproteínas de la membrana basal glomerular, lipoproteínas de muy baja densidad, lipoproteínas de alta densidad, proteínas con actividad enzimática o reguladora, etc. (52)

## ENTRECRUZAMIENTO DE PROTEINAS

Las consecuencias fisiopatológicas de la excesiva glucosilación no enzimática de proteínas era desconocida hasta hace poco tiempo, solo hasta ahora ha surgido de los laboratorios de investigación la información sobre los efectos biológicos de este fenómeno que en última instancia conduce a la formación de PTGA favoreciendo el entrecruzamiento de proteínas .

La capacidad de la hiperglucemia para agregar y producir uniones cruzadas de proteínas bajo condiciones fisiológicas in vivo e in vitro fue primeramente mostrada usando las proteínas del cristalino. La incubación de proteínas del cristalino con glucosa o con glucosa 6-fosfato resultó en opacificación de las soluciones de proteínas claras conforme la glucosilación no enzimática de los grupos epsilon-amino de lisina se incrementaban. Esta opacificación se pudo demostrar que es una consecuencia del alto peso molecular que llegaban a adquirir los agregados proteínico en un ambiente rico en glucosa.

In vivo, las proteínas del cristalino son normalmente protegidas contra la formación de enlaces cruzados por el glutati6n intracelular reducido (GSH). En el cristalino diabético, los niveles de glutati6n se encuentran disminuidos

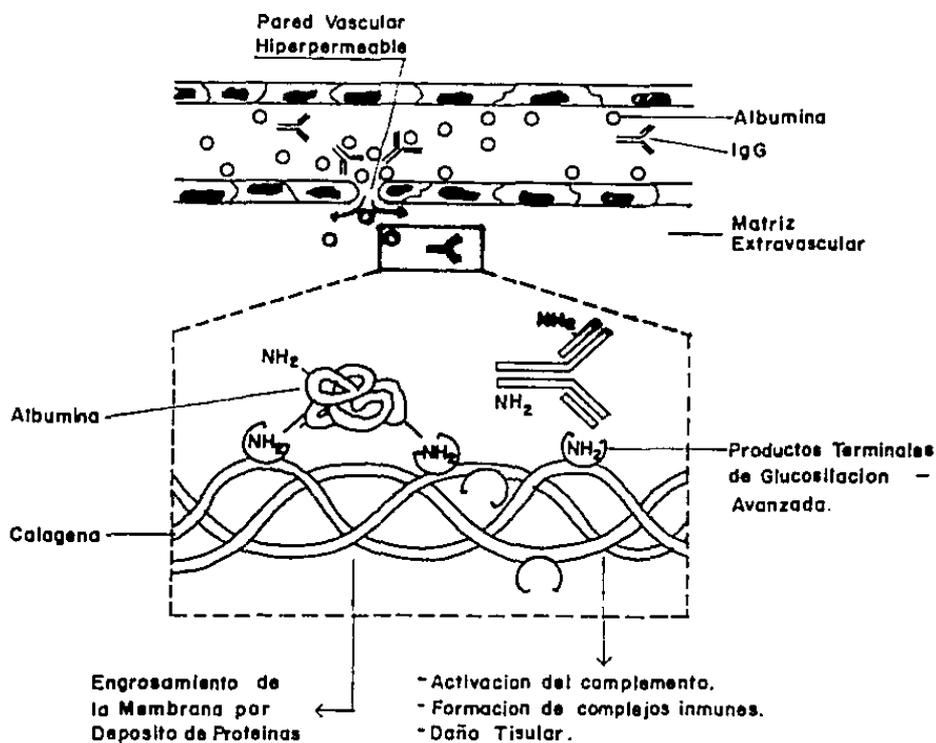
debido al incremento en la actividad de la ruta de los polioles que lo consume, actuando en forma sinérgica con la glucosilación no enzimática para causar la formación acelerada de uniones de disulfuro sobre las proteínas y la opacificación del cristalino.

La rápida acumulación de enlaces cruzados derivados de glucosilación no enzimática podría contribuir o acelerar la formación de cataratas en el paciente diabético.(55)

Los enlaces cruzados derivados de la glucosilación no enzimática también se forman cuando, los grupos reactivos generados por la glucosilación no enzimática de proteínas estructurales de larga vida como la colágena, atrapan proteínas solubles no glucosiladas, potencialmente dañinas. Esto se pudo observar en experimentos en donde se añadió a la colágena glucosilada no enzimáticamente, albúmina e IgG. comprobándose que éstas se unían a la colágena glucosilada, manteniendo la IgG antialbúmina bobina su capacidad para formar complejos inmunes in situ. Estas observaciones constituyen una explicación bioquímica para el intenso tinte lineal inmunofluorescente de la albúmina e IgG visto característicamente en membranas diabéticas extravasculares.

La unión de estas proteínas del suero al riñón diabético se ha demostrado que es indisociable. La acumulación persistente de proteínas circulantes tales como la albúmina puede contribuir

al característico engrosamiento de las membranas basales y el atrapamiento de la IgG puede ser responsable del ataque por depósitos de complejos membrana-complemento que ocurre en los riñones diabéticos. Además, la unión covalente de proteínas solubles a la colágena glucosilada puede ser la primera etapa en un proceso de formación de complejos inmunes in situ en algunos tejidos diabéticos. (52).



Se ha observado también que la colágena glucosilada en forma no enzimática, después de ser lavada y liberada de la glucosa,

continúa manteniendo su capacidad de atrapar proteínas solubles, lo que sugiere que la glucosa en si misma no es un elemento indispensable para continuar el entrecruzamiento de proteínas

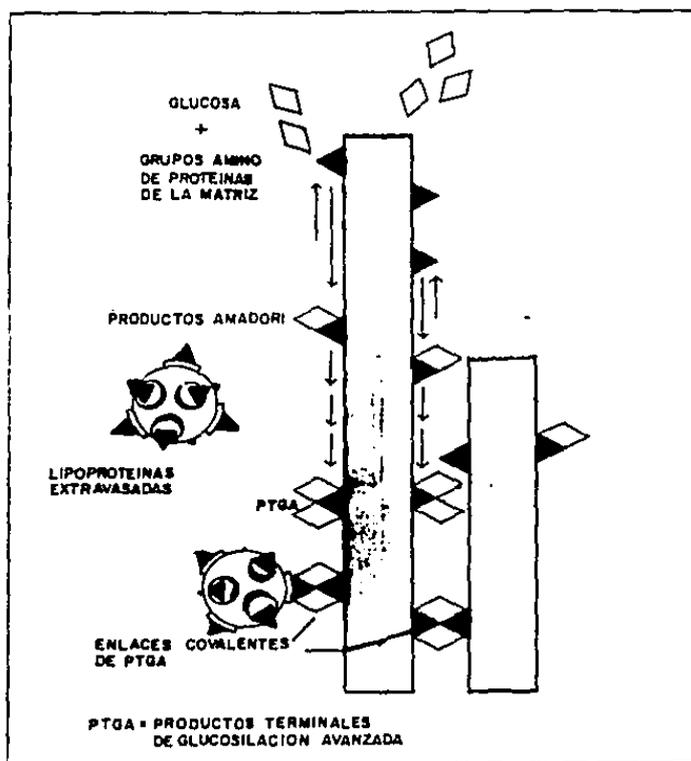
Las implicaciones clínicas de esta posibilidad son serias, lo que significa que el entrecruzamiento de proteínas puede continuar aún en ausencia de hiperglucemia, ya que una vez iniciado el fenómeno, éste continúa, perpetuándose indefinidamente, entonces la corrección de la hiperglicemia en el paciente diabético no será suficiente para detener la progresión de las complicaciones tardías de la diabetes mellitus.

## RELACION DE LOS PTGA EN LA ATEROESCLEROSIS

La acumulación extracelular de lipoproteínas de baja densidad es de gran importancia fisiológica en el desarrollo de la aterosclerosis aún en arterias sin lesiones ateroscleróticas de personas no diabéticas. Una forma por la cual la hiperglucemia en la diabetes mellitus puede acelerar el desarrollo de la enfermedad macrovascular es a través de uniones covalentes de lipoproteínas plasmáticas a las proteínas de la matriz extracelular mediante reacciones con los productos terminales de glucosilación avanzada.

Browlen y colaboradores realizaron varios estudios en donde observaron in vitro que a una concentración constante de LDL, la unión cruzada de LDL con la colágena se incrementa linealmente de acuerdo a la cantidad de productos terminales de glucosilación avanzada presente en el medio. Cuando los niveles de PTGA unidos a la colágena son constantes, las uniones de LDL se incrementan de acuerdo a su concentración. Si la concentración de colesterol de LDL es de 100 mg/dl, 3.2 veces más LDL resulta unido a la colágena que tiene PTGA que a cantidades idénticas de colágena que no tiene tales PTGA. In vivo, estos investigadores encontraron que la cantidad de lipoproteínas con unión cruzada a la colágena de aorta de ratas diabéticas es 2.5 veces mayor que la de animales no diabéticos. (11)

Una vez que las proteínas de corta vida del plasma, como la IgG y LDL resultan unidas covalentemente a la matriz vascular a través de la reacción con los FTGA, nuevos productos terminales se forman sobre estas proteínas incorporadas, las cuales pueden servir como sitios adicionales de unión para nuevas proteínas extravasadas. (53,61).



## ALTERACION DE PROTEINAS CON ACTIVIDAD ENZIMATICA

Los efectos de la glucosilación no enzimática en las proteínas con actividad enzimática se reflejan en la pérdida de su actividad catalítica, el mecanismo más factible de inactivación involucra la unión de la glucosa a los grupos lisina epsilon-amino, esencial para la función normal del sitio activo. Como ejemplo se tiene a la ribonucleasa A, en la cual al eliminarse la lisina de la posición 41, pierde totalmente su actividad enzimática. Se ha observado que la incubación de esta enzima con glucosa durante 24 horas da como resultado la pérdida del 50% de su actividad enzimática.

Otro ejemplo de enzima cuya actividad parece estar influenciada por glucosilación no enzimática son las sulfidril proteasa, así como las proteasas del suero tripsina, trombina y plasmina. Estas enzimas difieren sin embargo en que tienen cisteína en lugar de una serina en el sitio activo para formar intermediarios covalentes con los sustratos. La actividad de la catepsina B aislada de células de hígado humano es completamente abolida después de la incubación por 2 semanas con glucosa a una concentración de 300 mg/dl. Similarmente la actividad de la papaina es reducida entre el 70 y 90% después de la glucosilación no enzimática. En contraste, las proteasas tripsina y quimiotripsina retienen totalmente su actividad después de idéntica incubación con glucosa. La

presencia de residuos de lisina únicamente en las áreas de los sitios activos de las proteasas sulfidril puede explicar esta diferencia de la glucosilación sobre diversas enzimas.

Estudios de degradación de glucoconjugados de la enzima renal a-N-acetil-D-glucosaminidasa, proveen evidencia de que la pérdida de actividad asociada con glucosilación no enzimática puede resultar por cambios conformacionales en la molécula. La pérdida de la actividad de la enzima se demostró que progresa en función del tiempo de incubación y de la concentración de glucosa. Después de 15 días de incubación en 44.4 milimoles de glucosa, la actividad de la isoenzima A disminuyó a un 20%. Este decremento en la actividad de la enzima se acompañó por un incremento en el peso molecular de la enzima, de 130 000 a 250 000, sugiriendo que los cambios inducidos por la glucosa en la agregación de proteínas y enlaces cruzados puede contribuir a la pérdida de actividad de la enzima en algunos casos. (52)

## OBSTRUCCION VASCULAR Y AUMENTO EN LA PERMEABILIDAD

Los factores principales que contribuyen al desarrollo de las complicaciones tardías de la Diabetes Mellitus son la obstrucción vascular y el incremento en la permeabilidad de los vasos sanguíneos. La obstrucción vascular resulta de varios procesos inducidos por los PTGA que conjuntamente provocan:

- 1.- Disminución en la lisis y remoción de proteínas caducas.
- 2.- Incremento en el depósito de nuevas proteínas.
- 3.- Proliferación celular.

Se ha observado recientemente que los macrófagos tienen un papel muy importante en el recambio de proteínas de la matriz extracelular y de las células mesenquimatosas. Los investigadores han identificado en la membrana de los macrófagos un receptor específico para los PTGA. Al unirse las proteínas con PTGA al receptor del macrófago, éste se capacita para la remoción y reemplazo de macromoléculas seniles y desnaturalizadas por una larga exposición a la glucosa.

Las enzimas que degradan a las proteínas con PTGA de las paredes vasculares no son secretadas directamente por el macrófago. Lo que ocurre es que el macrófago estimulado

secreta Factor de Necrosis Tumoral e Interleucina I. Estas monoquinas amplifican la señal estimulando a las células mesenquimatosas las cuales a su vez producen y liberan colagenasa y otras proteasas, que son las que directamente producen la lisis de estas proteínas con PTGA y de otras proteínas. (53,63)

La disminución en la remoción de proteínas caducas se debe a una disminución en la susceptibilidad de éstas a la proteólisis cuando contienen PTGA. La acumulación de proteínas relacionadas con la colágena en la matriz extravascular es la alteración fisiopatológica central que caracteriza a la nefropatía diabética. La continua acumulación a lo largo de muchos años resulta finalmente en una falla renal progresiva debida a la oclusión capilar glomerular paulatina. El engrosamiento de la membrana basal glomerular en la diabetes inducida no revierte, sugiriendo que su susceptibilidad a mecanismos fisiológicos de degradación puede ser anormalmente baja. Lubec y Pollak encontraron in vitro que la susceptibilidad de membrana basal glomerular glucosilada no enzimáticamente a la digestión de proteasas no específicas como pepsina, tripsina y papaína, está considerablemente reducida. Similarmente Schnider y Khon observaron también que la susceptibilidad de la colágena de tendón de pacientes diabéticos a la digestión de proteasas como colagenasa y pepsina está también significativamente reducida. (52,56)

Otra proteína que una vez glucosilada disminuye su susceptibilidad a la proteólisis es la fibrina. La excesiva glucosilación no enzimática del fibrinógeno circulante ha sido mostrada en pacientes diabéticos, y después del depósito de fibrina el grado de glucosilación podría incrementar además. Esta glucosilación no enzimática de fibrina haría esperar una reducción en la susceptibilidad a la degradación por la enzima fibrinolítica específica plasmina, debido a que esta proteasa solo divide al sustrato arginina y a las uniones peptido-lisina.

Usando una muestra de fibrina y sustrato de plasmina sintética fluorogénica se encontró que el bloqueo de glucosa del grupo epsilon-amino de lisina en el fibrinógeno y en la molécula de fibrina interfiere en la interacción fibrinolítica enzima-sustrato. La degradación defectuosa de fibrina inducida por la excesiva glucosilación no enzimática in vivo podría llevar a la acumulación de fibrina como se observa en varios tejidos diabéticos.

Las condiciones experimentales que incrementaron la tasa de glucosilación no enzimática de proteínas estuvieron asociadas con grados de resistencia mayores a la degradación por plasmina. Reducciones análogas en la susceptibilidad a la degradación serían consecuencias esperadas de una excesiva glucosilación no enzimática en otras proteínas divididas preferentemente en el sustrato residual de lisina.

Un extenso número de proteínas estructurales de larga vida, glucosiladas en forma no enzimática, pueden presentar también una reducida susceptibilidad a la degradación por proteasas que dividen en residuos no lisina.(64)

La degradación deficiente de fibrina puede llevar a la acumulación de ésta en varios tejidos. Por medio de estudios histoquímicos se ha podido demostrar en el riñón diabético, la presencia de fibrina en la membrana basal del capilar glomerular. Respuestas locales al atrapamiento de fibrina mesangial y endotelial puede representar la fase inicial del desarrollo de un nódulo de Kimmelsteil-Wilson, y la persistencia de esta fibrina podría contribuir a la oclusión capilar y la desaparición glomerular progresiva a largo plazo.

El depósito de fibrina también ha sido reportado en capilares retinianos y en pequeñas arteriolas epineurales de pacientes con neuropatía diabética. En la pared arterial, la fibrina parece favorecer la proliferación de células del músculo liso arterial, mientras que los productos de degradación de fibrina (fragmentos D y E) la inhiben. La degradación defectuosa de fibrina glucosilada juega entonces un importante papel en el desarrollo de diversas complicaciones tardías de la diabetes.(52)

Otro factor importante que favorece la obstrucción vascular es la excesiva proliferación celular. Los PTGA al unirse al receptor de macrófago, favorecen la liberación por parte de éste, de Factor de Necrosis Tumoral e Interleucina I. La Interleucina I estimula la proliferación de fibroblastos, células mesangiales, endoteliales, y de músculos liso; además de incrementar la síntesis de colágena tipo IV glomerular, favoreciéndose así la obstrucción tanto vascular como mesangial.(53)

### INCREMENTO EN LA PERMEABILIDAD VASCULAR

El endotelio de los capilares glomerulares es selectivo para el paso de moléculas protéicas; así tenemos que las moléculas con carga negativa son menos filtrables que las de carga positiva o neutra; esta selectividad está dada por los proteinglicanos, componentes normales del endotelio vascular que poseen carga negativa.

Se ha postulado que una de las causas responsables del incremento en la permeabilidad vascular glomerular es la reducción en la membrana basal de proteinglicanos con carga electronegativa, lo que permite el escape de proteínas plasmáticas de carga negativa.

Observaciones en ratas diabéticas muestran una dramática reducción de estos proteinglicanos en las proteínas de la matriz extracelular que presentan PTGA, lo que sugiere que las uniones cruzadas de los integrantes de la membrana basal alteran o desorientan los sitios de reconocimiento para los proteinglicanos, impidiendo su unión a estas proteínas, favoreciéndose así su pérdida, con la consecuente alteración en la barrera electrostática. (69,70)

Por otra parte, la secreción de Factor de Necrosis Tumoral también induce cambios en las células endoteliales que llevan a un incremento en la permeabilidad vascular. Observaciones hechas por Slopen, Guinan y Fiers en cultivos de células endoteliales a los que se agregó en el medio Factor de Necrosis Tumoral revelaron que estas células respondían con elongación, traslape y reacomodo de sus filamentos de actina. Estos cambios morfológicos pueden explicar también el incremento en la permeabilidad endotelial. (69,70)

## MICRONANGIOPATIA DIABETICA

La microangiopatía diabética es la causa principal de mortalidad e incapacidad entre los pacientes con diabetes mellitus. Por mucho tiempo fué considerada enfermedad exclusiva de los lechos microvasculares renal y retiniano; pero ahora es bien conocido que las alteraciones por microangiopatía se encuentran ampliamente distribuidas por todo el organismo incluyendo extremidades, piel, tejido celular subcutáneo, músculo esquelético, miocárdio, sistema nervioso, etc. (38,39,40,41).

Aún cuando los mecanismos responsables en la génesis de la microangiopatía diabética no han sido resueltos, se ha observado que los cambios hemodinámicos en la microcirculación están presentes antes de que aparezcan manifestaciones clínicas y muy probablemente estos cambios están relacionados en forma causal con el desarrollo de la enfermedad.

La etapa temprana de la microangiopatía diabética se caracteriza por una dilatación microvascular generalizada y sostenida con hiperperfusión de los órganos afectados. Se han invocado como responsables de este fenómeno a varios factores como son:

10.- Disminución en la actividad de la renina plasmática

- 2o.- Disminución en la respuesta vascular a la angiotensina II
- 3o.- Disminución en la reactividad a las catecolaminas
- 4o.- Aumento en la producción de sustancias vasodilatadoras como Prostaglandina E2, F2, prostaciclina, etc.
- 5o.- Aumento en los niveles de hormona de crecimiento y glucagon
- 6o.- Hipoxia

La vasodilatación microcirculatoria crónica producida por la conjunción de estos factores, trae como consecuencia expansión del volumen plasmático y extracelular, aumentando la presión intracapilar, lo que produce a su vez hiperperfusión tisular. Se esperaría quizá que esta hiperperfusión tisular mejorara el funcionamiento orgánico, sin embargo, estos fenómenos al estar presentes en forma crónica producen daño en los lechos capilares con engrosamiento de la membrana basal, proliferación endotelial, trombosis intracapilar con obstrucción capilar y finalmente hipoxia; la hipoxia produce mayor vasodilatación perpetuándose el ciclo hipoxia, vasodilatación, daño capilar, trombosis, obstrucción, hipoxia, etc.(66)

## PATOGENESIS DEL DAÑO MICROCIRCULATORIO

Dada la naturaleza generalizada de dilatación microvascular en la diabetes mellitus y sus dañinas consecuencias a largo plazo, un punto importante surge respecto a los procesos que conducen a anormalidades hemodinámicas tempranas.

Como se mencionó anteriormente varios mecanismos son capaces de contribuir a esta vasodilatación microcirculatoria sostenida. Se ha visto que el sistema Renina-Angiotensina con frecuencia se encuentra alterado en pacientes diabéticos. En ausencia de una disminución del volumen sanguíneo, la actividad de renina plasmática tiende a ser menor que lo normal en el paciente diabético, particularmente cuando también está presente hipertensión o hipotensión ortostática. Así mismo, se ha visto que la respuesta vascular a la angiotensina II esta disminuida. En estudios realizado por Christlieb en ratas diabéticas se pudo observar que la actividad de la renina plasmática estaba disminuida a un 50% de los valores normales, y que la respuesta vascular a dosis presoras de angiotensina II estaba disminuida; corroborandose tambien que estas ratas diabéticas fueron incapaces de responder con incremento en el número de receptores como lo hacen animales sanos cuando los niveles de angiotensina II circulantes estan disminuidos. (40,41,66)

La reactividad vascular a las catecolaminas también es anormal en diabetes. Se ha demostrado una ligera disminución en la respuesta a la norepinefrina en estos sujetos. En un estudio realizado por Goldberg, Roseblum y Christlieb se reportó una ligera disminución en la reactividad a la norepinefrina en ratas diabéticas. En perros sometidos a pancreatectomía, la respuesta a la infusión de fenilefrina fue disminuida inmediatamente después de la cirugía, pero cuando se le añadió insulina a la infusión, la respuesta a la droga se restableció, sugiriendo que la insulina podría de alguna manera modular la acción vascular local de las catecolaminas. (42,44)

En adición a la disminución en la actividad de los mecanismos vasoconstrictores y a la expansión del volumen extracelular, un incremento en la producción de sustancias vasodilatadoras puede también contribuir a la hiperperfusión de tejidos, observada en diabetes temprana. Se ha demostrado que las infusiones a corto plazo de indometacina atenúan la hiperfiltración glomerular en ratas diabéticas. La producción de prostaglandina E está aumentada en plaquetas obtenidas de pacientes diabéticos después de la estimulación con ácido Araquidónico, ADP, epinefrina o colágena. Una liberación aumentada de sustancias vasodilatadoras como la prostaciclina y prostaglandina E2 también ha sido encontrada en corazón aislado y perfundido con solución de ácido Araquidónico obtenido de ratas diabéticas. (46)

Schambelan y colaboradores estudiaron glomérulos aislados de ratas normales y diabéticas; los glomérulos de las ratas diabéticas liberaron el doble o mas prostaglandina E2 y F2. Otros investigadores han observado incrementos similares en la producción de prostaglandinas en glomérulos aislados de ratas diabéticas.

En otros estudios con cultivos de células mesangiales de ratas diabéticas, se ha observado un incremento en la producción de prostaglandinas, y también se encontraron cantidades de prostaciclina desproporcionalmente mayores que en células control. Estos estudios también demostraron que al someter células normales a un medio con alta concentración de glucosa, éstas presentaban un incremento en la producción de prostaglandinas y vasodilatación, y al agregar insulina este efecto se elimina. (45,46)

Se ha visto también que agentes hormonales pueden deteriorar la homeostásis de la glucosa. Las hormonas glucorreguladoras y la glucosa, han demostrado que ejercen un efecto vasodilatador directo en la circulación renal. Esto se demostró en experimentos en donde se administró diariamente hormona de crecimiento durante una semana a sujetos normales para lograr niveles similares a los observados en pacientes

diabéticos. Se encontró un pequeño pero significativo incremento en la tasa de filtración glomerular y en el flujo plasmático renal, aunque el tamaño del riñón no cambió. (55).

Otros investigadores han encontrado también que los altos niveles de glucagón presentes en el diabético pueden contribuir a la vasodilatación renal y han demostrado que la infusión de glucagón induce un incremento en la tasa de filtración glomerular del 10 al 15% tanto en sujetos normales como en diabéticos. (47,48)

Por otra parte, es probable que la hiperglucemia per se promueva la vasodilatación renal en pacientes diabéticos, aunque sus efectos pueden ser difíciles de separar de aquellos que acompañan a las alteraciones bioquímicas. Se ha observado que la tasa de filtración glomerular se incrementa en 14% en sujetos normales durante la infusión de corto tiempo de glucosa, suficiente para mantener concentración sanguínea de 180mg/100 ml. En un intento para corroborar esto, unos investigadores perfundieron riñones aislados de ratas diabéticas y normales con diferentes concentraciones de glucosa, y obtuvieron una disminución en la resistencia vascular renal que variaba directamente con la concentración de la glucosa perfundida; este efecto fué parcialmente bloqueado por indometacina. (49)

Diversos hallazgos experimentales y clínicos han sugerido que en los pacientes diabéticos prevalece una tensión parcial de oxígeno tisular menor que en sujetos normales, lo que puede ser un factor más, contribuyente a la vasodilatación microcirculatoria generalizada. Estos investigadores encontraron que el consumo total de oxígeno está elevado del 10 al 12 % por arriba de lo normal en pacientes diabéticos, al mismo tiempo que la tasa metabólica está incrementada. Estas alteraciones se logran revertir con el control metabólico. (12,66)

El efecto vasoactivo de variaciones en la tensión arterial de oxígeno puede ser fácilmente visualizado en la retina; los capilares retinianos se dilatan y contraen con los cambios en las tensiones arteriales de oxígeno. Otros lechos microvasculares en los que se incluyen los del cerebro, tejido adiposo, miocárdico y músculo estriado, han mostrado respuestas similares a las variaciones en la tensión arterial de oxígeno.

La hipoxia relativa en tejidos, constituye un posible mecanismo, no solo para el inicio de microangiopatía diabética, sino también como se discutió previamente, para su perpetuación. Conforme el proceso avanza y más capilares son obstruidos, la reducción en el flujo sanguíneo deprime más aún

la tensión de oxígeno en el tejido, sometiendo a los capilares restantes a una dilatación adicional y a sus destructivas consecuencias. (65)

A los mecanismos de daño vascular antes mencionados, debemos agregar los efectos de la glucosilación no enzimática de proteínas y sus productos terminales de glucosilación avanzada sobre la permeabilidad vascular y la pared microvascular, mecanismos que se detallan ampliamente en el capítulo de Glucosilación No Enzimática de Proteínas de este trabajo.

## NEUROPATIA DIABETICA

A pesar de los avances recientes, la patogénesis exacta de la neuropatía diabética sigue siendo desconocida, y aunque es una de las complicaciones más comunes entre los diabéticos, también es una de las menos entendidas, con una incidencia reportada que varía desde el 5% hasta el 50%. Esta disparidad se debe principalmente a la ausencia de un acuerdo sobre una definición de lo que es la "neuropatía diabética". La forma de presentación y las manifestaciones clínicas de la neuropatía diabética es muy variada, lo que es reflejo de la heterogeneidad del problema, reconociéndose gran variedad de síndromes neuropáticos, cada uno quizá debido a factores etiológicos diferentes o intercurrentes. (12,31,33)

La neuropatía diabética está catalogada como una neuropatía axonal en donde la característica principal es la pérdida de fibras nerviosas. Aún cuando una clasificación es difícil, se reconocen dos variedades, la neuropatía periférica y la neuropatía autonómica; de la neuropatía periférica se reconocen 3 síndromes principales: 1) polineuropatía periférica simétrica distal, 2) neuropatía motora simétrica proximal y 3) neuropatía asimétrica focal. Generalmente los nervios sensoriales, motores y autonómicos están concurrentemente involucrados. (12,33)

Las manifestaciones clínicas de la polineuropatía simétrica distal depende del tipo de fibra involucrada; cuando predomina el tipo de fibra pequeña, los síntomas característicos son dolor y parestesia, principalmente en extremidades inferiores; puede haber adicionalmente disminución en la percepción al dolor o a la temperatura, con menor afección en los reflejos, sensación vibratoria y de posición. La disfunción autonómica es mas prevalente en esta forma de polineuropatía.

En la polineuropatía que involucra predominantemente el tipo de fibras grandes, el examen muestra pérdida del reflejo Aquileo, disminución en la percepción vibratoria y de posición, además de ataxia sensorial. Una división de las polineuropatías en tipos de fibra pequeña y de fibra grande es algo arbitraria, ya que la mayoría de los pacientes no manifiestan un tipo puro de fibra, siendo poco común el involucramiento selectivo. (12)

Aún cuando no hay explicación satisfactoria para el mecanismo del dolor en la neuropatía diabéticas, se han propuesto dos teorías: 1) la regeneración de fibras pequeñas no mielinizadas que causa impulsos nerviosos espontáneos, y 2) la hiperglucemia que por si misma causa incremento en la intensidad del dolor. Investigadores han observado que después de la infusión de glucosa, la tolerancia al dolor es inferior en los pacientes diabéticos que en los controles. Este hecho

persiste hasta que los niveles de glucosa en plasma regresan a lo normal. Sin embargo, en unos diabéticos, los síntomas neuropáticos dolorosos se presentan poco después de la institución del control de glucosa. Es posible que diferentes niveles de glucosa en plasma jueguen distintos papeles en la modulación de los receptores al dolor. (19,20,26)

Existen varias complicaciones que surgen de las polineuropatía diabética sensorial de larga evolución, como la artropatía neuropática o articulación de Charcot y el pié diabético. Los factores importantes en la patogénesis de éste último son: la enfermedad de pequeños vasos, la neuropatía sensorial y la infección secundaria. El papel de la disfunción autonómica en el desarrollo y la progresión de úlceras neuropáticas ha sido recientemente enfatizado. Debido a la atrofia de los músculos intrínsecos del pié, se produce una sobreexposición de la superficie plantar lo cual, en asociación con la neuropatía sensorial puede llevar a trauma no reconocido y subsecuentemente úlceras e infección.(21)

Las neuropatías focales pueden afectar cualquier nervio periférico o craneal; no hay relación entre el inicio de la mononeuropatía con la forma de tratamiento, grado de control, duración de la enfermedad, edad o sexo del paciente. De los nervios periféricos, los mas afectados son el mediano, cubital, peroneal y femoral. De los nervios craneales el III, IV y V son los mas comunmente afectados. El síndrome de

neuropatía diabética torácico-abdominal es una neuropatía focal que está siendo reconocida con creciente frecuencia. El correcto diagnóstico de este síndrome, frecuentemente autolimitado, es de la mayor importancia debido a que la presencia de dolor torácico o abdominal puede confundir y llevar a procedimientos invasivos innecesarios.

La disfunción del sistema nervioso autónomo es vista en aproximadamente el 20 al 40% de los diabéticos. La neuropatía autónoma puede variar desde leve hasta severa. Aún cuando la evaluación clínica de la neuropatía diabética autónoma ha sido en gran parte confinada a los sistemas cardiovascular y genitourinario, el involucramiento de todo el sistema nervioso autónomo podría ser demostrado si se utilizaran pruebas de sensibilidad adecuadas.

El sistema nervioso autónomo provee el estímulo cardíaco neurohumoral que modula el ritmo y contractilidad cardíaca, además de afectar el gasto cardíaco a través del control de la resistencia vascular periférica. Los cambios en cualquiera de estos parámetros podría contribuir en muchas de las funciones cardiovasculares anormales asociadas con la neuropatía diabética. La anomalía cardiovascular más comúnmente observada es la hipotensión postural, taquicardia en reposo, e infarto indoloro del miocardio. La hipotensión ortostática,

involucrando tanto los valores sistólicos como los diastólicos, siendo una característica clínica de la neuropatía diabética autonómica.(12,22)

## FISIOPATOLOGIA DE LA NEUROPATIA DIABETICA

Los axones nerviosos y las células de Schwann responsables de la síntesis y conservación de la mielina, a diferencia de otros tejidos, no requieren de insulina para metabolizar la glucosa o transportarla a través de la membrana, por lo tanto, las concentraciones de glucosa intracelular reflejan el grado de glucemia. En años recientes se han propuesto varios mecanismos patogénicos para el desarrollo de la neuropatía diabética.

La hipótesis más simplista y popular para explicar la patogénesis de la neuropatía diabética, es el efecto de la acumulación de sorbitol en la célula nerviosa. Aún cuando la sobrehidratación del tejido por la acumulación de sorbitol puede explicar la formación de cataratas en el diabético, el edema en el nervio diabético es más difícil de demostrar, ya que las concentraciones de sorbitol son demasiado pequeñas para ser osmóticamente significativas; sin embargo, como se mencionó anteriormente, el incremento en la actividad de la aldosa-reductasa secundario a la hiperglucemia, disminuye los niveles de mio-inositol y subsecuentemente la actividad de la bomba ATPasa-Na,K. (28, 29).

En el nodo de Ranvier, en situaciones normales, la  $ATPase-Na,K$  genera el gradiente electrolítico de sodio necesario para la conducción del impulso saltatorio, mediante la expulsión de iones de sodio desde el axolema al exterior. Por lo tanto, la reducción en la  $ATPase-Na,K$  produce incremento de iones sodio intra-axonal, resultando en una disminución del umbral de potencial de acción de membrana, lo que retrasa o bloquea la conducción en la fibra nerviosa.

Se ha visto que al administrar agentes inhibidores de la aldosa-reductasa, estas alteraciones pueden mejorar en algunas ocasiones; sin embargo, en otros pacientes la mejoría es mínima o nula, lo que indica que este fenómeno no es el único mecanismo responsable de la neuropatía diabética. La mejoría en la función neural en diabetes humana experimental después de la terapia con agentes inhibidores de la aldosa-reductasa, puede deberse a la influencia de estos agentes sobre los niveles de mio-inositol en el nervio o sobre la actividad de la  $ATPase-Na,K$ , mas que a un efecto directo en la reducción del nivel de sorbitol en el nervio. (26,27,32)

Como se mencionó anteriormente, el mio-inositol es un precursor de los polifosfoinositoles, importantes constituyentes de la membrana plasmática, que están surgiendo recientemente como elementos clave en muchas de las funciones celulares del nervio, como en el transporte de Na, K y Ca, y en la conducción de impulsos nerviosos.

En circunstancias normales, la concentración de mio-inositol libre en los nervios de mamíferos se encuentra entre 30 y 90 veces más alto que en el plasma, lo cual se logra por medio de un sistema de transporte activo de sodio, dependiente de energía. En los nervios y otros tejidos susceptibles a las complicaciones tardías de la diabetes, tanto en humanos como en animales, la deficiencia de insulina y la hiperglucemia consecuente, provocan una reducción en la concentración de mio-inositol. Esta reducción es posible por dos mecanismos: el incremento en la actividad de la ruta de los polioles y la inhibición competitiva que establece la glucosa por el sistema de transporte dependiente de ATPasa-Na-K utilizado por el mio-inositol para entrar a la célula. (25,29)

Una prueba que apoya esta teoría es que la administración de inhibidores de la aldosa-reductasa normaliza los niveles de mio-inositol en el nervio y restaura por completo la actividad de la ATPasa-Na-K, sugiriendo que la activación de la ruta de los polioles por la hiperglucemia es esencial o fundamental para la depleción del mio-inositol. (23,24,27,30)

Thomas, Lascelles y colaboradores encontraron en sus investigaciones desmielinización segmentaria de los nervios de pacientes diabéticos, comprobando que esta desmielinización no es secundaria a la atrofia axonal, lo que sugiere otros mecanismos como serían, alteraciones en la síntesis de

mielina secundaria a deficiencia de fosfoinositoles, así como glucosilación no enzimática de ésta que favorece una falsa señal de reconocimiento para los macrófagos con una excesiva degradación y recambio. (12,33,50,53)

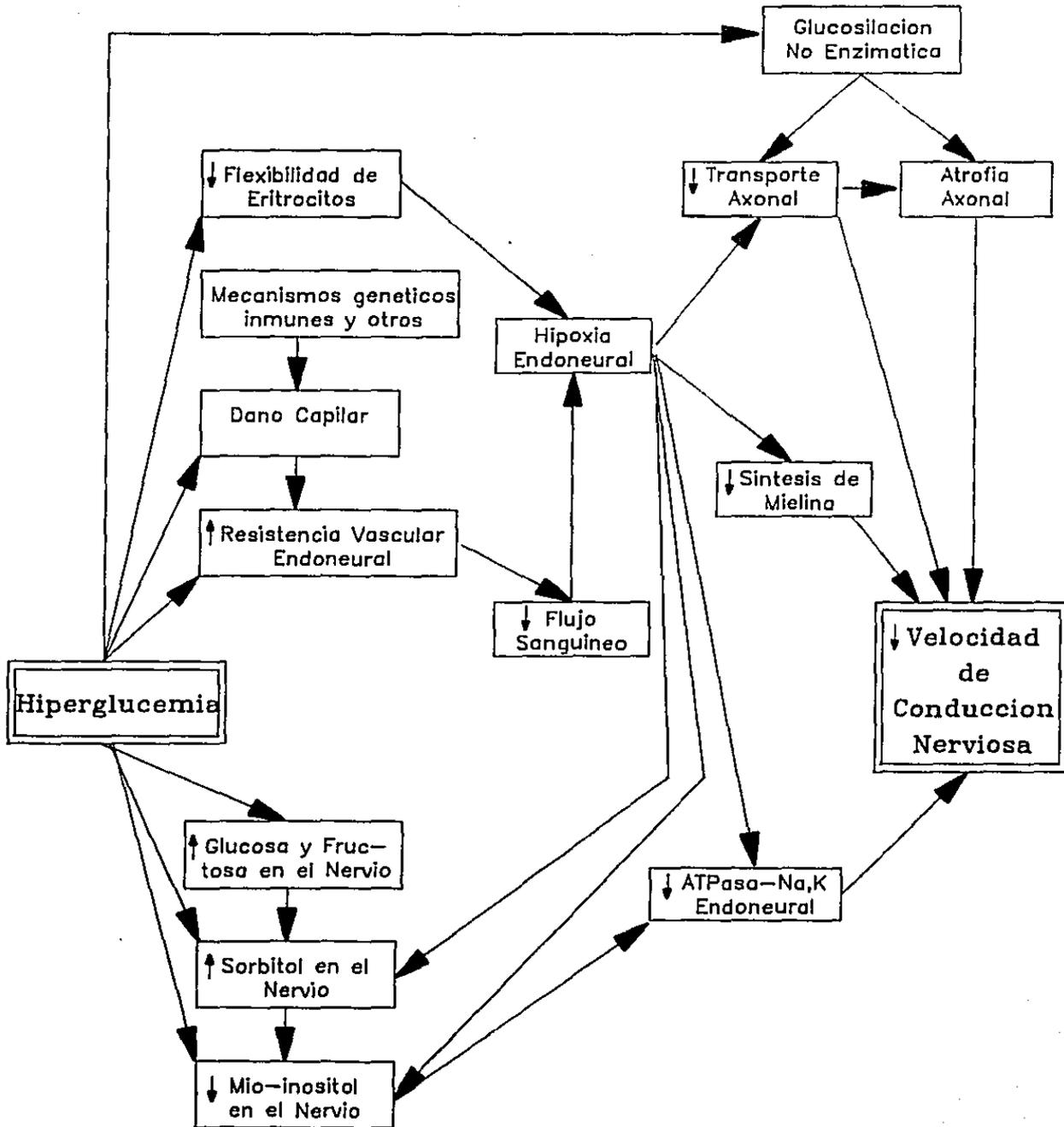
Otro mecanismo que se ha mencionado como importante contribuyente en la neuropatía diabética es la hipoxia, dada ésta por anormalidades capilares secundarias a microangiopatía de la vasanervorum y alteraciones reológicas que llevan a una disminución en el aporte de sangre y oxígeno al nervio, produciendo alteraciones en muchos de los procesos metabólicos que requieren energía, estableciéndose así un círculo vicioso de hipoxia y daño microvascular.

En varios experimentos realizados por Low se encontró lo siguiente: 1) en neuropatía diabética experimental de 4 meses de duración hay por lo menos un 33 % de reducción del flujo sanguíneo en el nervio ciático y un 170 % de incremento en la resistencia vascular de los vasos del nervio, lo que sugiere cambios vasculares. 2) Hay una significativa reducción en la presión parcial de oxígeno en el nervio, sugiriendo que la reducción en el flujo sanguíneo es primaria y no debida a una disminución en la demanda del tejido. 3) Hay una significativa reducción en los niveles de creatinfosfato e incremento de lactato. El creatinfosfato es una fuente de almacenamiento de ATP, y su alteración, así como el incremento del lactato

comprende respuestas metabólicas secundarias a la hipoxia, lo que conduce a una disminución en la velocidad de conducción del nervio. (12, 65).

La hipoxia crónica inducida en animales de experimentación normales produce disminución en la conducción nerviosa, con acumulación de sorbitol y reducción de mio-inositol en ausencia de hiperglucemia. El tratamiento con oxígeno en animales con neuropatía diabética pudo revertir y hasta prevenir la acumulación de sorbitol y disminución de mio-inositol. (36, 37)

Como se puede observar claramente, son muchos los factores que pueden contribuir a la neuropatía diabética, siendo el iniciador de estos factores la hiperglucemia. A continuación se presenta un cuadro correlativo propuesto por Low que nos ilustra como todos estos mecanismos que se han mencionado anterioremente pueden conjugarse para conducir a la neuropatía diabética. (12)



## NEFROPATIA DIABETICA

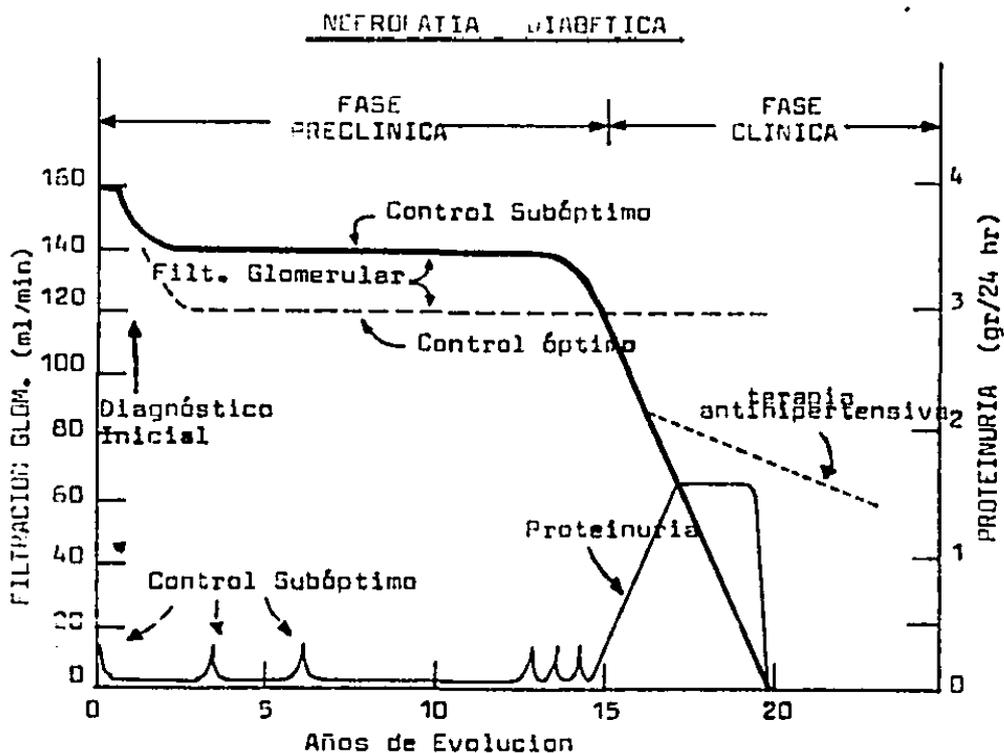
La nefropatia diabética es la principal causa de muerte en pacientes diabéticos, generalmente éstos presentan en forma simultánea enfermedades cardiovasculares asociadas que contribuyen a su fallecimiento.

El paciente con nefropatia diabética representa una carga bastante onerosa para el estado y/o sus familiares debido a la cronicidad del padecimiento y las múltiples complicaciones asociadas que se van presentando.

Como ya se mencionó anteriormente, la nefropatia diabética se presenta en promedio después de los 15 años de enfermedad. Actualmente se distinguen 2 fases, la fase silenciosa o preclínica y la fase de nefropatia establecida o fase clínica.

La fase silenciosa o preclínica se caracteriza por una hiperfunción renal, con hipertrofia e hiperfiltración, sin evidencia de daño estructural al examen microscópico, coincidiendo en el momento del diagnóstico inicial de Diabetes Mellitus Insulinodependiente. Después de cierto tiempo de haberse establecido el control metabólico, estos cambios revierten.

El tamaño de los riñones, tanto en humanos como en animales de experimentación es mayor, con una filtración glomerular que puede llegar a ser hasta 40% por arriba de la normal. La albuminuria en esta etapa es intermitente, presentandose en situaciones de estrés como el ejercicio fisico, infecciones, etc., manteniendose dentro de un rango denominado de microproteinuria, es decir, menor a 300fg/min (432 mg/24 hr), la cual es detectable unicamente por pruebas inmunológicas como radioinmunoensayo.



ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Si el paciente persiste con un pobre control metabólico, después de aproximadamente dos años, puede pasar dentro la de fase silenciosa, a la etapa de lesión glomerular sin enfermedad clínica, en la cual comienzan a aparecer cambios histológicos, con un gradual engrosamiento de la membrana basal glomerular y del mesangio; continuando con hipertrofia e hiperfiltración. La albuminuria generalmente es mayor pero aún dentro del rango de microproteinuria.

Al continuar el descontrol, se va favoreciendo el daño renal con cambios histológicos y aproximadamente después de 10 a 15 años de ser diabético, el paciente puede pasar a la etapa de nefropatía diabética incipiente. Esta etapa es particularmente importante desde el punto de vista clínico; es la etapa en donde una efectiva intervención ofrece al paciente una mayor oportunidad, siendo el límite entre la fase preclínica y la fase clínica, entre lo reversible y lo irreversible.

En esta etapa la función renal aún está preservada con una tasa de filtración glomerular normal o mayor de lo normal, persistiendo la hipertrofia e hiperfiltración intermitentes, la microproteinuria tiende a ser mayor y se observa también incremento en daño glomerular y mesangial.

Aquí se observa que la excreción de  $\alpha_2$  microglobulina no se incrementa, lo que indica que la función tubular está aún preservada y que los cambios observados en la excreción de

albúmina se deben a cambios glomerulares progresivos. La presión arterial está directamente relacionada con la albuminuria, incrementándose ésta última al elevarse la presión arterial.

Al ir progresando el daño renal favorecido por factores como hiperglucemia, hipertensión, etc., la proteinuria se incrementa dejando de ser microproteinuria (mayor a 300ug/min), siendo ésta detectada ya por métodos convencionales como la cinta reactiva, pasando entonces el paciente a la fase clínica de nefropatía diabética establecida, caracterizada por ser irreversible, con lesión renal que avanza inexorablemente a pesar de un buen control metabólico y antihipertensivo. La tasa de filtración glomerular cae rápidamente, perdiéndose aproximadamente 1 ml/min/mes, con hiperazoemia progresiva. El rango de proteinuria en esta etapa es muy variable siendo desde mínimo (.5 gr/24 hr) hasta rangos nefróticos (5, 10, 15 gr/24 hr).

Histológicamente el daño renal es avanzado, con engrosamiento de la membrana basal, hialinización y obstrucción de los glomérulos y sobrecarga de los glomérulos conservados lo que acelera su destrucción, evidenciándose también engrosamiento mesangial importante. Estos cambios van progresando hasta la hialinización y obstrucción total, pasando el paciente a la etapa de falla renal terminal. (68, 72,73)

En el siguiente cuadro se resumen las etapas de la Nefropatía Diabética, antes mencionada, con sus características clínicas y patológicas principales.

## ETAPAS EN EL DESARROLLO DE LESIO

Cambios

E t a p a	Descripción	Cronología	Principales Cambios o Lesiones Estructurales	Tasa de Filtrado Glomerular	Flujo Plasmático Renal
1	Hipertrofia-hiperfuncion renal temprana (antes de tratamiento con insulina).	Presente al diagnosticar la Diabetes (puede continuar por muchos años cuando el control es pobre.	Aumento del tamaño del riñón y de los glomerulos. Hipertrofia e hiperplasia de los nefrones.	Incremento de entre 20% y 40%.	Normal o ligeramente aumentado.
2	Lesiones renales sin signos clínicos.	Detectable despues de 2 años de diabetes. Progresión sobre varios años.	Aumento en el espesor de la membrana basal observable en biopsia renal, expansión mesangial conforme avanza hacia las etapas 3 y 4.	Incremento de entre 20% y 30%.	Normal o ligeramente aumentado.
3	Nefropatia diabetica incipiente.	Despues de 15 a 20 años (en el 30% a 40% de los pacientes).	No se ha estudiado lo suficiente.	Incremento de entre 20% y 30%.	Incipiente, lenta declinación.
4	Nefropatia diabetica clinicamente establecida.	Despues de 15 a 20 años (en el 30% a 40% de los pacientes)	Glomeruloesclerosis nodular difusa. Gotas capsulares. Tapones fibrinoides. Hialinosis arteriolar.	Sin tratamiento: disminuye alrededor de 1 ml/min cada mes.	Sin tratamiento disminuye alrededor de 5 ml/min cada mes.
5	Falla renal terminal.	Resultado final despues de 25 a 30 años.	Obstrucción glomerular.	Menos de 10 ml/min	Bajo.

**NEFROPATÍAS Y CAMBIOS RENALES EN DIABETES MELLITUS TIPO I**

**Funcionales**

**Excreción de Albúmina**

Sin ejercicio	Inducida por Ejercicio	Presión Sanguínea	Reversible por Tx Estricto con Insulina	Reversible o se Detiene con Tx Antihipertensivo	Observaciones
Aumentada.	Aumentada (antes del tratamiento con insulina).	Normal.	Si.	No hay evidencia de hipertensión. Alteraciones modificables de la microcirculación glomerular.	Puede vincularse a la nefropatía clínica, o modular adversamente su curso.
Normal en la mayoría de los pacientes.	Anormal después de algunos años.	Normal	Se desconoce (cambios de la etapa 1 reversibles)		Progresión a nefropatía clínica en el 30% a 40% de los pacientes.
15-300 mcg/min con incremento de alrededor de 25 mcg/min cada año.	Anormal. Agravamiento de las anomalías observadas en reposo.	Aumento incipiente agravado durante el ejercicio.	Desconocido. A investigar.	Probablemente. Hay estudios en proceso	Debe realizarse un gran esfuerzo para detener la nefropatía en esta etapa.
Proteinuria clínica progresiva.	No estudiado.	Anormal. (alrededor de 160/105)	No es reversible ni se puede detener.	El progreso se reduce. Es recomendable tratamiento temprano (buscando 140/85-90 Hg).	Estrecho control de la presión sanguínea en todos los diabéticos (al igual que una oftalmoscopia frecuente).
Es frecuente cierta declinación debida a la obstrucción de los nefrones.	No estudiado.	Elevada.	No.	No estudiado.	Alrededor del 25% de los pacientes en la etapa de falla renal terminal son diabéticos en Estados Unidos.

## FISIOFATOLOGIA DE LA NEFROPATIA DIABETICA

La nefropatía diabética es una manifestación de enfermedad de la microcirculación que involucra a los capilares glomerulares y a lo cual se agrega daño de la matriz mesangial. En su desarrollo intervienen importantes cambios hemodinámicos y fenómenos secundarios a glucosilación no enzimática de proteínas inducidos por la hiperglucemia, los cuales han sido ampliamente descritos en capítulos anteriores y que en esta ocasión solo mencionaré brevemente.

En la hiperfiltración que caracteriza a las etapas tempranas de la nefropatía diabética se conjugan varios factores que son:

- 1o.- La hiperglucemia que "per se" aumenta la tasa de filtración glomerular en un 5-15%. (49,74).
- 2o.- Aumento en los niveles de Hormona del Crecimiento y Glucágon que también incrementan la tasa de filtración glomerular. (47,48,75,76).
- 3o.- Respuesta vascular alterada con disminución en niveles de renina plasmática y disminución en el número de receptores para renina en las células endoteliales (40,41).
- 4o.- Disminución de los receptores celulares para Angiotensina II. (40,41).
- 5o.- Disminución en la producción de catecolaminas. (42,42,44)

60.- Incremento en la síntesis de prostaglandinas vasodilatadoras. (45,46)

Todos estos factores producen vasodilatación, con incremento en el flujo plasmático renal, aumento en la presión intracapilar glomerular y consecuentemente aumento en la tasa de filtración glomerular. Además de los cambios hemodinámicos, están presentes también los efectos de la glucosilación no enzimática de proteínas sobre los endotelios glomerulares y el mesangio.

Como se mencionó anteriormente, las proteínas glucosiladas no enzimáticamente producen enlaces cruzados entre sí, que favorecen el atrapamiento de moléculas solubles del plasma como IgG, albúmina, lipoproteínas de baja densidad, etc, produciendo depósitos de complejos inmunes con daño directo endotelial, depósito de lípidos y engrosamiento de la membrana basal con obstrucción progresiva de los glomérulos.

La obstrucción microvascular se ve favorecida también por una disminución en la lisis y remoción de estas proteínas con productos terminales de glucosilación avanzada caducas, las cuales se van depositando en la matriz vascular y mesangial indefinidamente. Por otra parte, los productos terminales de glucosilación avanzada al unirse a receptores específicos de macrófagos, estimulan la liberación de Factor de Necrosis Tumoral e Interleucina I, ésta última favorece la

proliferación de fibroblastos, células mesangiales, células endoteliales y células de músculo liso que favorecen también el engrosamiento de la membrana basal glomerular con obstrucción subsecuente y engrosamiento del mesangio. (53,63).

En la proteinuria intervienen también varios mecanismos:

- 1.- Incremento de la presión intracapilar glomerular debido a los cambios hemodinámicos mencionados anteriormente.
- 2.- Pérdida de la barrera electrostática. Se ha observado en ratas diabéticas que las proteínas de la membrana basal glomerular con productos terminales de glucosilación avanzada presentan una reducción importante en su contenido de proteinglicanos, lo que sugiere que las uniones cruzadas de los integrantes de la membrana basal alteran o desorientan los sitios de reconocimiento para los proteinglicanos, impidiendo su unión y favoreciendo su pérdida, lo que altera las propiedades de la barrera electrostática glomerular con pérdida de proteínas. (69,75)
- 3.- Los productos terminales de glucosilación avanzada además producen cambios conformacionales en las células endoteliales, favoreciendo el escape de las proteínas. (69,70).

Otro factor que favorece el daño renal es la hipertensión arterial al acelerar las lesiones endoteliales. Se ha podido observar una correlación directa entre la presión arterial y la proteinuria, incrementándose la proteinuria al incrementarse la presión arterial.

Estudiando cada uno de estos factores por separado no se ha podido demostrar que su efecto sea significativo por si solo, pero es factible pensar que al estar actuando todos ellos en forma simultánea produzcan los efectos observados en el paciente diabético durante su estudio.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Clements RS. ALDOSA REDUCTASA INHIBITION IN THE PREVENTION AND TREATMENT OF DIABETES-ASSOCIATED COMPLICATIONS. Am J Med 1985;79:(Suppl 5A):1.
- 2.- Clements RS, Bell D. COMPLICATIONS OF DIABETES. PREVALENCE, DETECTION, CURRENT TREATMENT AND PROGNOSIS. Am J Med 1985;79(Suppl 5A):2-7.
- 3.- Greene DA. ACUTE AND CHRONIC COMPLICATIONS OF DIABETES MELLITUS IN OLDER PATIENTS. Am J Med 1986;80 (Suppl 5A):39-53.
- 4.- Greene DA, Lattimer SA, Sima AF. SORBITOL, PHOSPHO-INOSITIDES, AND SODIUM-POTASSIUM ATPase IN THE PATHOGENESIS OF DIABETIC COMPLICATIONS. N Engl J Med 1987;316:599-606.
- 5.- Finegold D. POLYOL PATHWAY ACTIVITY AND MYO-INOSITOL METABOLISM. A SUGGESTED RELATIONSHIP IN THE PATHOGENESIS OF NEUROPATHY .Diabetes 1983;32:988-991.
- 6.- Akayi Y, Yajima Y, Kador PF, Kuwabara T and Kinoshita H. LOCALIZATION OF ALDOSA REDUCTASE IN THE HUMAN EYE. Diabetes 1984;33:562-66.
- 7.- Colan DG, Kinoshita H, Kador PF, Robinson G, Datilis M at al. ALDOSE REDUCTASE AND COMPLICATIONS OF DIABETES. Ann intern med 1984;101:82-91
- 8.- Kador PF, Kinoshita JH. ROLE OF ALDOSE REDUCTASE IN THE DEVELOPMENT OF DIABETES-ASSOCIATED COMPLICATIONS. Am J Med 1985;79:(suppl 5A)8-12.
- 9.- Raskin P, Rosenstock J. ALDOSE REDUCTASE INHIBITORS AND DIABETIC COMPLICATIONS. Am J Med 1987;83:298-306.
- 10.- Kinoshita JH, Fukushi S, Kador P. ALDOSE REDUCTASE IN DIABETIC COMPLICATIONS ON EYES. Metabolism 1979;28:462-9.
- 11.- Kinoshita JH, CATARACTS IN GALACTOSEMIA. Invest Ophthalmol 1965;4:786-99.
- 12.- Yadollah H. DIABETIC PERIPHERAL NEUROPATHIES. Ann Intern Med 1987;107:546-59.
- 13.- Greene D and Lattimer S. ACTION OF SORBINIL IN DIABETIC PERIPHERAL NERVE. RELATIONSHIP OF POLYOL (SORBITOL) PATHWAY INHIBITION TO A MYO-INOSITOL MEDIATED DEFECT IN SODIUM-POTASSIUM ATPase ACTIVITY. Diabetes 1984;33:712-6.
- 14.- Clements RS. NEW THERAPIES FOR THE CHRONIC COMPLICATIONS OF OLDER DIABETIC PATIENTS. Am J Med 1986;80:(suppl 5A)54-60.

- 15.- Gerich JE. INSULIN-DEPENDENT DIABETES MELLITUS PATHOPHYSIOLOGY. Mayo Clin Proc 1986;61:787-91.
- 16.- Editorials. DIABETIC RENAL-RETINAL SYNDROME. Arch intern Med 1980;140:1149-50.
- 17.- Santiago JV. OVERVIEW OF THE COMPLICATIONS OF DIABETES. Clin Chem 1986;32:B48-B53.
- 18.- Piradt J. DIABETES MELLITUS AND ITS DEGENERATIVE COMPLICATIONS. A PROSPECTIVE STUDY OF 4 400 PATIENTS OBSERVED BETWEEN 1947 AND 1973. Diabetes Care 1978;1:1968:252.
- 19.- Morley GK, Mooradian AD, and Levine AD. MECHANISMS OF PAIN IN DIABETIC PERIPHERAL NEUROPATHY. EFFECT OF GLUCOSE ON PAIN PERCEPTION IN HUMAN. Am J Med 1984;77:79-82.
- 20.- Boulton AJ, Drury J, and Clarke K. CONTINUOUS SUBCUTANEOUS INSULIN INFUSION IN THE MANAGEMENT OF PAINFUL DIABETIC NEUROPATHY. Diabetes Care 1982;5:386-90.
- 21.- Ahmed AG, Roberts VC, Watkins PJ. THE ROLE OF AUTONOMIC NEUROPATHY IN DIABETIC FOOT ULCERATION. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1986;49:1002-6.
- 22.- Gabbay HK. THE SORBITOL PATHWAY AND THE COMPLICATIONS OF DIABETES N Engl J Med 1971;288:831-6.
- 23.- Simon AD, Winegrad AI, and Martin EL. SIGNIFICANCE OF TISSUE MYO-INOSITOL CONCENTRATIONS IN METABOLIC REGULATION IN NERVE. Science 1982;217:848-50.
- 24.- Young JR, Ewing DJ and Clarke BF. A CONTROLLED TRIAL OF SORBINIL AN ALDOSE REDUCTASE INHIBITOR, IN CHRONIC PAINFUL DIABETIC NEUROPATHY. Diabetes 1983;32:938-42.
- 25.- Greene DG, De Jesus PV and Winegrad AI. EFFECTS OF INSULIN AND DIETARY MYO-INOSITOL ON IMPAIRED MOTOR NERVE CONDUCTION VELOCITY IN ACUTE STREPTOZOTOCIN DIABETES. J Clin Invest 1975;55:1326-36.
- 26.- Boulton AJM, Drury J, Clarke B and Ward JD. CONTINUOUS SUBCUTANEOUS INSULIN INFUSION IN THE MANAGEMENT OF PAINFUL DIABETIC NEUROPATHY. Diabetes Care 1982;5:386-390.
- 27.- Jaspan J, Maselli R, Herold K and Bartkus C. TREATMENT OF SEVERELY PAINFUL DIABETIC NEUROPATHY WITH AN ALDOSE REDUCTASE INHIBITOR: RELIEF OF PAIN AND IMPROVE SOMATIC AND AUTONOMIC NERVE FUNCTION. Lancet 1983;1758-62.

- 28.- Finegold D, Lattiner SA, Nolle S, Bernstein N and Greene D. POLYOL PATHWAY ACTIVITY AND MYO-INOSITOL METABOLISM. Diabetes 1983;32:988-92.
- 29.- Greene D and Lattiner S. PROTEIN KINASE C AGONISTS ACUTELY NORMALIZE DECREASED OUBAIN-INHIBITABLE RESPIRATION IN DIABETIC RABBIT NERVE. Diabetes 1986;35:242-45.
- 30.- Jaspan J, Herold K and Bartkus C. EFFECTS OF SORBINIL IN DIABETIC PATIENTS WITH PAINFUL PERIPHERAL NEUROPATHY AND AUTONOMIC NEUROPATHY. Am J Med 1985;79:(suppl 5A)24-37.
- 31.- Morley JE, Mooradian AD, Rosenthal MJ. DIABETES MELLITUS IN ELDERLY. IS IT DIFFERENT ?. Am J Med 1987;83:533-44.
- 32.- Pfeifer MA. EFFECTS OF GLYCEMIC CONTROL AND ALDOSE REDUCTASE INHIBITION ON NERVE CONDUCTION VELOCITY. Am J Med 1985;79 (suppl 5A)18-23.
- 33.- Brown MJ and Asbury AK. DIABETIC NEUROPATHY. Ann Neurol 1984;15:2-12.
- 34.- Archer AG, Watkins PJ, Sharma AK and Payan J. THE NATURAL HISTORY NEUROPATHY IN DIABETES MELLITUS. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1983;46:491-9.
- 35.- Koglin L, Clark C and Ryder S. THE RESULT OF THE LONG TERM OPEN-LABEL ADMINISTRATION OF "ALREDASE" IN THE TREATMENT OF DIABETIC NEUROPATHY.
- 36.- Low PA, Schmelzer JD and Ward KK. THE EFFECT OF ENDONEURIAL HYPOXIA ON PERIPHERAL NERVE FUNCTION. Neurology 1985,35(suppl) 292-5.
- 37.- Low PA, Schmelzer JD and Ward KK. EXPERIMENTAL CHRONIC HYPOXIC RELEVANCE TO DIABETIC NEUROPATHY. Am J Physiol 1986;250:E94-9.
- 38.- Kastrup J, Norgaard T, Parving HH and Lassen NA. DECREASED DISTENSIBILITY OF RESISTANCE VESSELS OF SKIN IN TYPE I (INSULIN-DEPENDENT) DIABETIC PATIENTS WITH MICROANGIOPATHY Clin Scien 1987,72:123-30.
- 39.- Raskin P, Petri OA, Unger R and Shannon A. THE EFFECT OF DIABETIC CONTROL ON THE WIDTH OF SKELETAL-MUSCLE CAPILLARY BASEMENT MEMBRANE IN PATIENTS WITH TYPE I DIABETES MELLITUS. N Engl J med 1983;309:1546-50.
- 40.- Mueller SM, Mueller MM and Ertel PJ. SYMPATHETIC AND VASCULAR DYSFUNCTION IN EARLY EXPERIMENTAL JUVENILE DIABETES MELLITUS. Am J Physiol 1982;243:H139.44.

- 41.- Aagenaes O, and Moe H. LIGHT-AND ELECTRON MICROSCOPIC STUDY OF SKIN CAPILLARIES OF DIABETES. Diabetes 1961;4:253-9.
- 42.- Christlieb AR, Janka HU, Kraus B. VASCULAR REACTIVITY TO ANGIOTENSIN II AND TO NOREPINEPHRINE IN DIABETIC SUBJECTS. Diabetes 1976;25:969-74.
- 43.- Cristlieb AR, Kaldani A and D'Elia JA. PLASMA RENIN ACTIVITY AND HYPERTENSION IN DIABETES MELLITUS. Diabetes 1976;25:969-74
- 44.- Golberg E and Roseblum I. REDUCTION IN CARDIOVASCULAR AND METABOLIC rESPONSE TO PHENYLEPHRINE IN CUTELY PANCREATECTOMIZED DOGS. Am Heart J 1966;72:483-8.
- 45.- Schambelan M and Blake S. INCREASED PROSTAGLANDIN PRODUCTION BY GLOMERULI ISOLATED FROM RATS WITH STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES MELLITUS. J Clin Invest 1985;75:404-12.
- 46.- Rosen P and Schor K. INCREASED PROSTACYCLIN RELEASE FROM PERFUSED HEART OF ACUTELY DIABETIC RATS. Diabetologia 1980;18:391-4.
- 47.- Aguilar PA, Eisentraut AM and Unger RH. PANCREATIC GLUCAGON SECRETION IN NORMAL AND DIABETIC SUBJECTS. Am J Med Sci 1969;257:415-8.
- 48.- Parving HH and Chistiansen JS. THE EFFECT OF GLUCAGON INFUSION ON KDNEY FUNCTION IN SHORT-TERM INSULIN-DEPENDENT JUVENILE DIABETIC. Diabetologia 1980;19:350-4.
- 49.- Kasike BL, O Donnell MP. GLUCOSA REDUCE VASCULAR RESISTANCE IN NORMAL AND DIABETIC KIDNEYS. Kidney Int 1984;25:247.
- 50.- Sidenius P. THE AXONOPATHY OF DIABETIC NEUROPATHY. Diabetes 1982;31:356-63.
- 51.- Brownlee M, Vlassara H and Kooney A. AMINOGLUANIDINE PREVENT DIABETES-INDUCED ARTERIAL WALL PROTEIN CROSS LINKING. Science 1986;232:1629-32.
- 52.- Brownlee M, Vlassart H and Cerami A. NONENZIMATIC GLYCOSILATION AND THE PATHOGENESIS OF DIABETIC COMPLICATIONS. Ann Intern Med 1984;101:527-37.
- 53.- Brownlee M, Cerami H and Vlassara H. ADVANCED GLYCOSYLATION END PRODUCTS IN TISSUE AND THE BIOCHEMICOL BASIC OF DIABETIC COMPLICATIONS. N Engl J Med 1988;318:1315-21.

- 54.- Vishwanath V, Frank K, Elements C and Dauchot P. GLYCATION OF SKIN COLLAGEN IN TYPE I DIABETES MELLITUS. Diabetes 1986;35:916-21
- 55.- Cerami A, Steven VJ and Monnier VM. ROLE OF NONENZYMATIC GLYCOSYLATION IN THE DEVELOPMENT OF THE SEQUELAE OF DIABETES MELLITUS. Metabolism 1979;28:431-9.
- 56.- Schnider S and Kohn RR. THE EFFECT OF AGE AND DIABETES MELLITUS ON THE SOLUBILITY AND NONENZYMATIC GLYCOSYLATION OF HUMAN SKIN COLLAGEN. J Clin Invest 1981;67:1630-5.
- 57.- Brownlee M, Pongor M and Cerami A. COVALENT ATTACHMENT OF SOLUBLE PROTEIN BY NONENZYMATIC GLYCOSYLATION COLLAGEN. J Exp 1983;158:1739-44.
- 58.- Sawers JR, Tuck ML an Sowers DK. PLASMA ANTITROMBIN III AND TROMBIN GENERATION TIME. Diabetes Care 1980;3:655-8.
- 59.- Gonen B, Boengiger J and Schanfeld G. NOENZYMATIC GLYCOSYLATION OF LOW DENSITY LIPOPROTEIN IN VITRO. Diabetes 1981;30:875-8.
- 60.- Witztun JL, Mahoney EM, Branks MJ. NOENZYMATIC GLYCOSYLATION OF LOW DENSITY LIPOPROTEIN ALTES AT BIOLOGIC ACTIVITY. Diabetes 1982;31:283-91.
- 61.- Brownlee M, Vlassara H, Kooney A. INHIBITION OF DIABETES-INDUCED ARTERIAL WALL LIPOPROTEIN DEPOSITION AN PREVENTION OF ARTERIAL WALL CALLAGEN CROSS-LINKING BY AMINIGUANIDINE. Diabetologia 1986;29:52-3
- 62.- Eble AS, Thorpe SR and Baynes JW. NOENZYMATIC GLYCOSYLATION AND GLUCOSA-DEPENDENT CROSS-LINKING OF PROTEIN. J Biol Chem 1983; 258:9506-12.
- 63.- Vlassara H, Brownlee M, Cerami A. SPECIFIC MACROPHAGE RECEPTOR ACTIVITY FOR ADVANCED GLYCOSYLATION END PRODUCTS INVESITY CORRELATES WITH INSULIN LEVELS IN VIVO. Diabetes 1988;37:456-61.
- 64.- Coradello H, Lubec G, Pollak A. ENZYME ACTIVITIES OF NATIVE NON-ENZYMATICALLY GLUCOSED TRIPSIN CHYMIOTRIPSIN AN PAPAINE. Pediatr Patol 1982;17:457-64.
- 65.- Dtzal J and Standi E. THE PROBLEM OF TISSUE OXIGENATION IN DIABETES MELLITUS Am J Med 1986;80:443-59.
- 66.- Zatz R Brenner BM. PATHOGENESIS OF DIABETIC MICRO-ANGIOPATY. Am J Med 1986;80:443-59.
- 67.- Grenfell A and Watkins PJ. CLINICAL DIABETIC NEPHROPATHY. NATURAL HISTORY AND COMPLICATIONS. Clinic Endocrinol and Metabol 1986;15:783-805.

- 68.- Mogensen CE. MICROALBUMINURIA AS A PREDICTOR OF CLINICAL DIABETIC NEPHROPATY. *Kidney Int* 1987;31:673-89.
- 69.- Klein DJ, Brown DM and Oegema D. GLOMERULAR PROTEOGLYCANS IN DIABETES. *Diabetes* 1986;35:1030-42.
- 70.- Shimomura H, Spiro RG. STUDIES ON MACROMOLECULAR COMPONENTS OF HUMAN GLOMERULAR BASEMENT MEMBRANE AND ALTERATIONS IN DIABETES. *Diabetes* 1987;36:374-81.
- 71.- Hostetter TH, Rennke HG, Brenner BM. THE CASE FOR INTRARENAL HYPERTENSION IN THE INITIATION AND PROGRESSION OF DIABETIC AND OTHER GLOMERULOPATHIES. *Am J Med* 1982;32:654-9.
- 72.- Grenfell A and Watkins PJ. CLINICAL DIABETIC NEPHROPATHY: NATURAL HISTORY AND COMPLICATIONS. *Clinic Endocrinol Metab* 1986;15:783-805.
- 73.- Mogensen CE, Chistensen CK and Vittinghus E. THE STAGE IN DIABETES RENAL DISEASE WITH EMPHASES ON THE STAGE OF INCIPIENT DIABETIC NEPHROPATHY. *Diabetes* 1983;32:suppl 2:64-78.
- 74.- Mogensen CE, GLOMERULAR FILTRATION RATE AND RENAL PLASMA FLOW IN NORMAL AND DIABETIC MAN DURING ELEVATION OF BLOW SUGAR LEVELS. *Scand J Clin Lab Invest* 1971;28:177-83.
- 75.- Parvin GH, Christensen JS, Noer J, Tronier B and Mogensen CE. THE EFFECT OF GLUCAGON INFUSION ON KIDNEY FUNCTION IN SHORT-TERM INSULIN DEPENDENT JUVENILE DIABETES. *Diabetologia* 1980;19:330-33.
- 76.- Christensen JS. KIDNEY FUNCTION ON SIZE IN NORMAL SUBJECTS BEFORE AND DURING GROWTH HORMONE ADMINISTRATION FOR ONE WEEK. *European J Clin Invest* 1981;11:487-91.