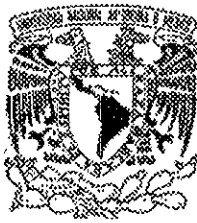


2ep



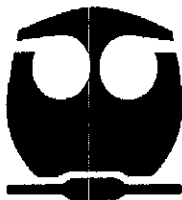
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA

TRABAJO MONOGRAFICO DE ACTUALIZACION
"DIAGNOSTICO, TRATAMIENTO Y PREVENCION DE
LA DIABETES MELLITUS"

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

PRESENTE

LORENA GUADALUPE GUZMAN MENDEZ



MEXICO, D.F.



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

1998

26779B

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Prof. Leon Chapa Saturnino De

Vocal: Prof. Peniche Villalpando Laura

Secretario: Prof. Reyna Rodríguez Ma. del Socorro Cecilia

1er. Suplente: Prof. Nava Díaz Graciela

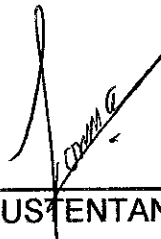
2do. Suplente: Prof. Velazquez Salgado Rosalinda

Sitio donde se desarrollo el tema: Facultad de Química



ASESOR

Reyna Rodríguez Ma. del Socorro Cecilia



SUSTENTANTE

Lorena Guadalupe Guzmán Méndez

AGRADECIMIENTOS

A Dios por haberme dado la oportunidad de vivir.

A la Universidad por darme la oportunidad de pertenecer a esta gran escuela.

A la Facultad de Química por brindarme los conocimientos que nos conducen a lugares sin fronteras.

Al personal del Departamento de Bioquímica Aplicada: Ricardo, Lore, Martha, Bertin, Rosalinda, Claudia y Ceci por que siempre me ayudaron a seguir adelante con una sonrisa, con un consejo o simplemente con escucharme.

A ti mami por tus desvelos, por tus preocupaciones y por tu gran cariño.

A tí papi por que siempre confiaste en mí y me animaste a ser una profesionista.

A mis hermanos: Miriam, Wendy, Pedro y Rogelio por soportar mis enojos, mis días de desvelo y mis preocupaciones.

A ti Raúl "mi amor" por tu gran amor, por tus regaños, por tu apoyo incondicional y por nuestra hermosa relación que contribuyó en gran parte para realizar esta meta en mi vida.

A mis compañeras de trabajo por animarme siempre: Chuy, Rosi, Gaby y Alicia.

A mis amigas de siempre: Lidia, Tere, Lili y Ame.

INDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
1.- CARBOHIDRATOS.	2
1.1.- DEFINICIÓN.....	2
1.2. - CLASIFICACIÓN DE CARBOHIDRATOS.....	2
1.2.1.- MONOSACÁRIDOS.....	3
1.2.2.- OLIGOSACÁRIDOS.....	4
1.2.3.- POLISACÁRIDOS.....	4
1.3.- METABOLISMO.....	5
1.4.- REGULACIÓN HORMONAL.....	8
1.4.1. INSULINA.....	9
1.4.2. GLUCAGÓN.....	13
1.4.3. ADRENALINA.....	14
1.4.4. TIROXINA.....	14
1.4.5. HORMONA DEL CRECIMIENTO.....	15
1.4.6.HORMONA ADRENOCORTICOTRÓPICA.....	15
1.4.7. CORTISOL, SOMATOSTATINA Y SOMATOMEDINAS.....	16
2. DIABETES.....	19
2.1. DEFINICIÓN.....	19
2.2. CLASIFICACIÓN.....	20
2.3. DIABETES MELLITUS INSULINO DEPENDIENTE.....	22
2.3.1. EPIDEMIOLOGÍA.....	22
2.3.2. GENÉTICA.....	23
2.3.3. PATOGÉNESIS E HISTORIA NATURAL.....	25
2.4. DIABETES MELLITUS NO INSULINO DEPENDIENTE.....	35
2.4.1. RESISTENCIA A LA INSULINA E HIPERINSULINEMIA.....	36

2.4.2. GENÉTICA.....	52
2.5. COMPLICACIONES AGUDAS DE LA DIABETES MELLITUS.....	53
2.5.1. CETOACIDOSIS.....	53
2.5.2. HIPOGLUCEMIA DIABÉTICA.....	57
2.5.3. COMA HIPEROSMOLAR NO CETÓNICO.....	60
2.6. COMPLICACIONES CRÓNICAS DE LA DIABETES MELLITUS.....	61
2.6.1. MECANISMOS DE PATOGENICIDAD.....	62
2.6.2. COMPLICACIONES MICROVASCULARES.....	89
2.6.3. COMPLICACIONES MACROVASCULARES.....	102
2.6.4. OTRAS COMPLICACIONES.....	105
3.0. DIAGNÓSTICO Y SEGUIMIENTO DE LABORATORIO DE LA DIABETES MELLITUS.....	110
3.1. GLUCOSA PLASMÁTICA EN AYUNAS.....	111
3.1.1. MÉTODOS ANALÍTICOS.....	112
3.1.2. PRECAUCIONES.....	114
3.1.3. INTERPRETACIÓN.....	114
3.2. GLUCOSA EN ORINA.....	115
3.2.1. MÉTODOS ANALÍTICOS.....	115
3.2.2. PRECAUCIONES.....	116
3.2.3. INTERPRETACIÓN.....	116
3.3. GLUCOSA POSPANDRIAL DE DOS HORAS.....	118
3.4. PRUEBA DE TOLERANCIA ORAL A LA GLUCOSA.....	118
3.4.1. MÉTODO.....	119
3.4.2. PRECAUCIONES.....	119
3.4.3. INTERPRETACIÓN.....	120
3.5. HEMOGLOBINA GLUCOSILADA.....	121
3.5.1. HEMOGLOBINA.....	121
3.5.2. FORMACIÓN Y FRACCIONES RESULTANTES.....	125
3.5.3. MÉTODOS DE CUANTIFICACIÓN.....	127

3.5.4. PRECAUCIONES	139
3.5.5. INTERPRETACION Y UTILIDAD CLÍNICA.....	141
3.6. FRUCTOSAMINA O ALBÚMINA GLUCOSILADA.....	142
3.6.1. MÉTODO.....	143
3.7. PRUEBAS PARA EVALUAR LA FUNCION RENAL	143
3.7.1. CREATININA.....	144
3.7.2. UREA.....	146
3.7.3. MICROALBUMINURIA.....	147
DISCUSIÓN.....	150
CONCLUSIÓN.....	153
GLOSARIO DE TÉRMINOS.....	155
REFERENCIAS.....	158

INDICE DE FIGURAS**CAPITULO 1**

Figura I.1. Ejemplos de una aldosa y una cetosa.....	3
Figura I.2. Absorción y metabolismo de la glucosa.....	6
Figura I.3. Esquema de la insulina.....	11
Figura I.4. Control hormonal del volumen celular.....	18

CAPITULO 2

Figura II.1A. Primer modelo de las bases autoinmunes de la Diabetes mellitus Insulino Dependiente	33
Figura II.1B. Segundo modelo de las bases autoinmunes de la Diabetes mellitus Insulino Dependiente	34
Figura II.2. Relaciones entre los principales factores involucrados en la patogenia de la Diabetes mellitus No Insulino Dependiente.....	37
Figura II.3 Señales intracelulares que se activan cuando la insulina se une a su receptor.....	39
Figura II.4. Anormalidades de la acción de la insulina en el músculo esquelético en pacientes con Diabetes mellitus No Insulino Dependiente.....	41
Figura II.5. Modelo para explicar las alteraciones que causa la hiperinsulinemia.....	42
Figura II.6. Componentes del síndrome de resistencia a la insulina.....	44
Figura II.7. Mecanismo de origen del coma diabético.....	55

Figura II.8. Formación de productos finales de glicosilación avanzada a partir de glucosa.....64

Figura II.9. Célula esquemática que muestra tres mecanismo generales por los cuales los AGE pueden causar cambios patológicos en la diabetes.....65

Figura II.10. Esquema de los mecanismos por los cuales las proteínas con productos finales de glicosilación avanzada se unen a receptores específicos de macrófagos y células endoteliales.....78

Figura II.11. Vía del poliol y metabolismo de la fructosa.....80

Figura II.12. Cambios que ocurren durante el desarrollo de una catarata diabética.....81

Figura II.13. Vía del fosfatidilinositol.....84

Figura II.14. Interrelación entre la hiperglucemia, vía de los polioles, ATPasa Na^+/K^+ y conducción nerviosa en la diabetes.....85

Figura II.15. Posible mecanismo por el cual la hiperactividad de algunas vías metabólicas causan un desequilibrio entre los radicales O^{2-} y NO88

Figura II.16. Esquema hipotético para el desarrollo de la insuficiencia renal crónica terminal.....95

Figura II.17. Patomecanimos evolutivos que llevan frecuentemente a la amputación.....107

CAPITULO 3

Figura III.1. Síntesis de la hemoglobina.....124

INDICE DE CUADROS**CAPITULO 1**

Cuadro I.1. Efecto de las hormonas sobre la concentración de glucosa sanguínea.....	9
---	---

CAPITULO 2

Cuadro II.1. Principales haplotipos HLA-DR y DQ y sus asociaciones con diabetes en Caucásicos.....	25
Cuadro II.2. Consecuencias de la hiperinsulinemia.....	45
Cuadro II.3. Esquema terapéutico en la cetoacidosis diabética.....	57
Cuadro II.4. Proteínas que sufren glicosilación no enzimática.....	67
Cuadro II.5. Variables <i>in vitro</i> que determinan la magnitud de la glicosilación no enzimática y su contra parte <i>in vivo</i>	69
Cuadro II.6. Procesos fisiológicos alterados por glicosilación no enzimática.....	70
Cuadro II.7. Clasificación de las lesiones retinianas asociadas a <i>Diabetes mellitus</i>	91
Cuadro II.8. Evolución de la nefropatía diabética.....	97
Cuadro II.9. Tratamiento de la nefropatía diabética.....	98

INTRODUCCIÓN

La Diabetes mellitus es una de las enfermedades crónicas más importantes y ampliamente distribuidas en todo el mundo. La gravedad de la Diabetes mellitus está dada por el hecho de que la diabetes es la causa más frecuente de ceguera, fallas renales y amputaciones.

Los últimos años han aportado una gran cantidad de conocimientos en el campo de la Diabetes que arrojan una nueva luz sobre la naturaleza de la enfermedad. Como en otros campos, el perfeccionamiento de los métodos bioquímicos, clinicoquímicos y morfológicos ha contribuido en los progresos obtenidos.

Por lo que el estudiante de la carrera de Química Farmacéutica Bióloga, requiere conocer:

- Cuales son las bases bioquímicas del proceso de la enfermedad
- Cuales son las principales determinantes fisiológicas de las complicaciones crónicas
- Cuales son las consecuencias patofisiológicas más importantes

Todo lo anterior con la finalidad de poder implementar las metodologías necesarias en el monitoreo adecuado del paciente diabético para su mejor control, por lo que es necesaria esta revisión bibliográfica actualizada, que sirva al estudiante de herramienta para conocer el problema de salud que implica esta enfermedad.

1.- CARBOHIDRATOS.

1.1.- DEFINICIÓN.

Los carbohidratos y su catabolismo constituyen una fuente importante de energía para el cuerpo humano. El término carbohidrato significa hidrato de carbono y se derivó de las primeras observaciones de que la fórmula empírica para la mayoría de los carbohidratos es $(\text{CH}_2\text{O})_n$. Desde esas primeras observaciones, se han encontrado carbohidratos complejos que contienen otras entidades químicas y cuya proporción de carbono, hidrógeno y oxígeno no es 1:2:1.

Es más conveniente definir a los carbohidratos como compuestos aldehídicos o cetónicos con grupos hidroxilo múltiples. Los carbohidratos que contienen un grupo aldehído se denominan aldosas y los que tienen un grupo cetónico se llaman cetosas. Como se observa en la figura I.1., una aldosa tiene el grupo carbonilo (C=O) en el extremo de la cadena del carbono; una cetosa tiene el grupo carbonilo en un átomo de carbono interno. La glucosa y la fructosa son ejemplos de una aldosa y una cetosa respectivamente (4).

1.2. - CLASIFICACIÓN DE CARBOHIDRATOS.

Existen tres tipos principales de carbohidratos (4,47).

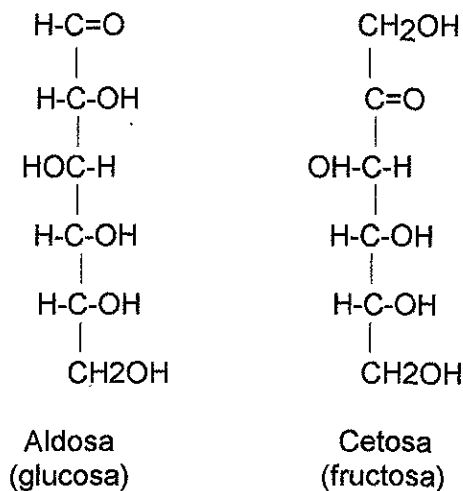


Fig. I.1. Ejemplos de una aldosa y una cetosa.

1.2.1.- MONOSACÁRIDOS.

Los monosacáridos son azúcares simples que sólo contienen un grupo aldehído o cetona y dos o más grupos hidroxilo. Su forma empírica es $(\text{CH}_2\text{O})_n$, en donde $n = 3$ o más. Los azúcares con tres, cuatro, cinco, seis y siete átomos de carbono son triosas, tetrasas, pentosas, hexosas y heptosas, respectivamente.

La mayoría de los monosacáridos contienen un aldehído libre o un grupo cetónico y reducen fácilmente a los agentes oxidantes como el ión cúprico, el ferrocianuro o el peróxido de hidrógeno. En éstas reacciones el grupo carbonilo del azúcar se oxida en solución alcalina y el agente oxidante se reduce. Los azúcares capaces de reducir agentes oxidantes se denominan azúcares reductores. Esta propiedad constituye una de las bases para la determinación analítica de la glucosa.

1.2.2.- OLIGOSACÁRIDOS.

Los oligosacáridos consisten en algunas cadenas cortas de unidades de monosacáridos enlazadas mediante enlaces covalentes. El oligosacárido más sencillo y más abundante es un disacárido.

Los disacáridos constan de dos monosacáridos unidos covalentemente entre sí por un enlace glucosídico. Este último se forma entre un aldehído o grupo cetónico (el carbonilo o carbono anomérico) de un monosacárido y el grupo hidroxilo o el carbono anomérico del otro monosacárido con eliminación de una molécula de agua.

La maltosa es un disacárido compuesto de dos moléculas de glucosa y es un azúcar reductor que tiene un grupo carbonilo potencialmente libre en la segunda molécula de glucosa. La sacarosa o azúcar de caña, está formada por glucosa y fructosa. En la unión de éstos dos monosacáridos participan ambos átomos de carbono anoméricos de manera que no hay grupo carbonilo libre. Por éste motivo la sacarosa no es un azúcar reductor.

1.2.3.- POLISACÁRIDOS.

Los polisacáridos están formados de muchas unidades de monosacáridos enlazadas unas con otras. Los polisacáridos más importantes en la naturaleza son el almidón, que es el principal carbohidrato de almacenamiento de las células de las plantas y el glucógeno que es el principal carbohidrato de almacenamiento de las células animales. Ambos contienen de 25 a 2500 unidades de glucosa enlazadas entre sí y por lo tanto se denominan glucosanos.

El almidón consta de dos tipos de glucosanos, llamados amilosas y amilopectinas. La amilosa consiste en cadenas no ramificadas muy largas, de 25 a 300 unidades de glucosa unidas por enlaces α -1,4 glucosídicos. La amilopectina es un polisacárido ramificado compuesto de 1 000 o más unidades de glucosa unidas por enlaces α -1,4 pero los puntos de ramificación son enlaces α -1,6.

El glucógeno, al igual que la amilopectina, es un polisacárido ramificado con unidades de D-glucosa, pero tiene más ramificaciones. El glucógeno se encuentra en el hígado y en el músculo esquelético.

1.3.- METABOLISMO.

Los carbohidratos son los principales componentes de la dieta de los seres humanos. Para que los carbohidratos puedan absorberse y utilizarse para obtener energía, es necesario que se descompongan hasta monosacáridos, mediante el proceso de digestión (Fig. I.2).

La digestión se inicia en la boca, en donde la amilasa de la saliva hidroliza el almidón para formar dextrinas y maltosas intermedias. En el estómago, la amilasa de la saliva se inactiva por el pH ácido del jugo gástrico. El pH del intestino delgado es más alcalino, de manera que la digestión del almidón y el glucógeno a maltosa termina ahí gracias a la amilasa pancreática que es casi idéntica a la amilasa de la saliva pero más potente; después de vaciarse el quimo del estómago al duodeno y de mezclarse con el jugo pancreático, todos los almidones son digeridos por la amilasa pancreática (81). La maltosa, junto con cualquier lactosa o sacarosa que se haya ingerido, se hidroliza frente a enzimas de la mucosa intestinal (disacaridasas) y forman los monosacáridos glucosa, galactosa y

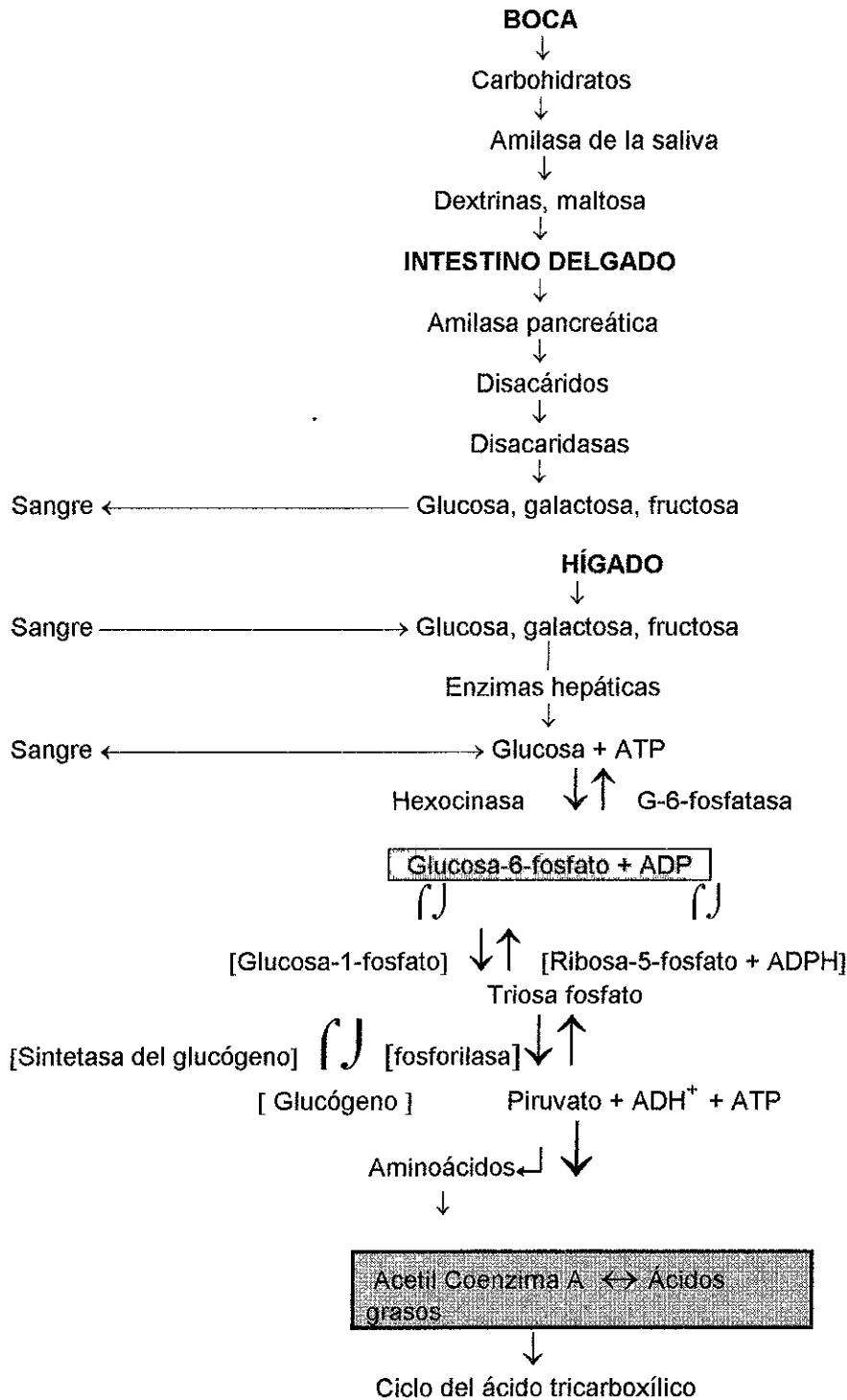


Fig. I.2. Absorción y metabolismo de la glucosa

fructosa. Posteriormente éstos monosacáridos son absorbidos por la circulación portal (4,81).

Como la glucosa es el único monosacárido que el cuerpo utiliza para producir energía, las enzimas hepáticas transforman la galactosa y fructosa en glucosa, ya que las células epiteliales del intestino delgado contienen cuatro enzimas: lactasa, sacarasa, maltasa y alfa-dextrina, capaces de desdoblar los disacáridos lactosa, sacarosa y maltosa, y los polímeros pequeños de la glucosa en sus monosacáridos constituyentes. Así pues, los productos finales de la digestión de los carbohidratos son los monosacáridos (69). En el primer paso de utilización de la glucosa, la glucosa del hígado reacciona con el trifosfato de adenosina (ATP) en presencia de hexocinasa para formar la glucosa-6-fosfato. La glucosa-6-fosfato sirve de punto de partida para tres vías posibles de metabolización de la glucosa.

Si el organismo necesita energía, la glucosa se metaboliza en su totalidad hasta dióxido de carbono y agua formando energía a través de la producción de ATP. Hay dos vías principales para ésta descomposición: la vía glucolítica o ciclo de Embden-Meyerhof y la vía alterna del monofosfato de hexosa (HMP).

Cuando el organismo no requiere glucosa para obtener energía de inmediato, la almacena en el hígado en forma de glucógeno. El proceso de formación de glucógeno a partir de glucosa se denomina glucogénesis y se verifica cuando hay niveles altos de glucosa en sangre. Cuando la glucosa sanguínea empieza a descender, el glucógeno se transforma de nuevo en glucosa mediante un conjunto de enzimas. La descomposición de glucógeno para formar glucosa y otros productos intermedios se denomina glucogenólisis. El glucógeno también se forma y se almacena en los músculos, sin embargo, sólo el glucógeno hepático se encuentra disponible para la sangre, ya que el músculo carece de la enzima glucosa-6-fosfatasa necesaria para la transformación de glucógeno nuevamente en glucosa.

La gluconeogénesis es la formación de glucosa a partir de fuentes que no son carbohidratos, como los aminoácidos, el lactato o la porción de glicerol de los lípidos.

La concentración de glucosa en sangre es muy estable en circunstancias ordinarias. En un ayuno breve, se evita el descenso de la glucosa sanguínea por formación de glucosa a través de la glucogenólisis. En el ayuno prolongado, la gluconeogénesis se hace más importante como fuente de glucosa. A medida que aumentan los niveles de glucosa sanguínea, la glucogenólisis es reemplazada por la glucogénesis. Estas vías tienen mecanismos de control delicados, como inhibición por retroalimentación y control hormonal, por lo cual la glucosa sanguínea se mantiene dentro de los límites poco amplios a pesar de las modificaciones debidas a la alimentación y el ayuno (4).

Para que la glucosa pueda ser utilizada por las células, se transporta a través de la membrana celular hacia el citoplasma. Sin embargo, la glucosa no puede difundir a través de los poros de las membranas celulares, por su peso molecular, por lo que para pasar al interior de las células se requiere la acción de la insulina (81).

1.4.- REGULACIÓN HORMONAL.

Algunas de las hormonas del cuerpo humano regulan la concentración de glucosa en sangre y afectan una o más de las vías metabólicas. Diversas hormonas trabajan juntas para mantener la concentración poco variable de la glucosa en sangre. La insulina hace descender la glucosa sanguínea; otras hormonas contra regulatorias como glucagon, adrenalina, cortisol y la hormona del

crecimiento, elevan los niveles de glucosa. La acción de éstas hormonas se resume en el cuadro I.1.

Hormona	Origen	Efecto de [glucosa]	Acción hormonal
Insulina	Células beta del páncreas	↓	Membrana celular, glucogénesis
Glucagon	Células alfa del páncreas	↑	Glucogenólisis, gluconeogénesis
Adrenalina	Médula suprarrenal	↑	Glucogenólisis
Tiroxina	Glándula tiroides	insignificante	Glucogenólisis
GH	Pituitaria anterior	↑	Antagonista de la insulina
ACTH	Pituitaria anterior	↑	Antagonista de la insulina
Cortisol	Corteza suprarrenal	↑	Gluconeogénesis, antagonista de la insulina.
Somatostatina	Células delta del páncreas	Leve	Inhibe la liberación de insulina y glucagon
Somatomedina	Hígado	Leve	Actividad similar a la insulina

Cuadro I.1. Efecto de las hormonas en la concentración de glucosa sanguínea.

1.4.1. INSULINA.

La insulina es un péptido pequeño con peso molecular de 5808 daltons, en el caso de la especie humana. Está compuesta por dos cadenas de aminoácidos, que se muestran en la figura I.3, conectadas entre sí por enlaces disulfúricos. La insulina es secretada por las células betas de los islotes pancreáticos de Langerhans en respuesta a niveles elevados de glucosa en sangre (80). Es la única hormona que hace descender la glucosa sanguínea. La cantidad de insulina que se requiere para una reducción específica de glucosa sanguínea varía según el individuo. La insulina disminuye la glucosa sanguínea por inhibición en la producción de glucosa hepática y por estimulación del músculo esquelético a utilizar glucosa. El mecanismo por el cual la insulina causa la captación y depósito de glucosa en el hígado incluye varias etapas simultáneas:

1. La insulina inhibe la fosforilasa hepática, enzima que causa el desdoblamiento hepático del glucógeno en glucosa. Este hecho impide la destrucción del glucógeno que ya se encuentra en las células hepáticas.
2. La insulina aumenta la captación de glucosa de la sangre por las células hepáticas al incrementar la actividad de la enzima glucocinasa, que causa la fosforilación inicial de la glucosa tras difundir al interior de las células hepáticas. Una vez fosforilada, la glucosa es atrapada dentro de los hepatocitos por que la glucosa fosforilada no puede difundir nuevamente a través de la membrana celular.
3. La insulina aumenta así mismo la actividad de las enzimas que promueven la síntesis de glucógeno, como la fosfofructocinasa que causa la segunda etapa de la fosforilación de la molécula de glucosa y la glucógeno sintetasa, que se encarga de la polimerización de las unidades de monosacáridos para formar las moléculas de glucógeno (81).

Los eventos de la acción de la insulina empiezan a ocurrir en segundos y duran hasta horas, según se muestran a continuación (53):

SEGUNDOS.

- * Unión al receptor
- * Cambio de conformación en el receptor
- * Agregación del receptor
- * Activación del receptor de la cinasa
- * Cambios en el flujo de iones

MINUTOS

- ◇ Cambios en el flujo de iones
- ◇ Internalización del receptor
- ◇ Generación de posibles sustancias "mediadoras"
- ◇ Estimulación del recambio de fosfolípidos
- ◇ Activación de enzimas intracelulares

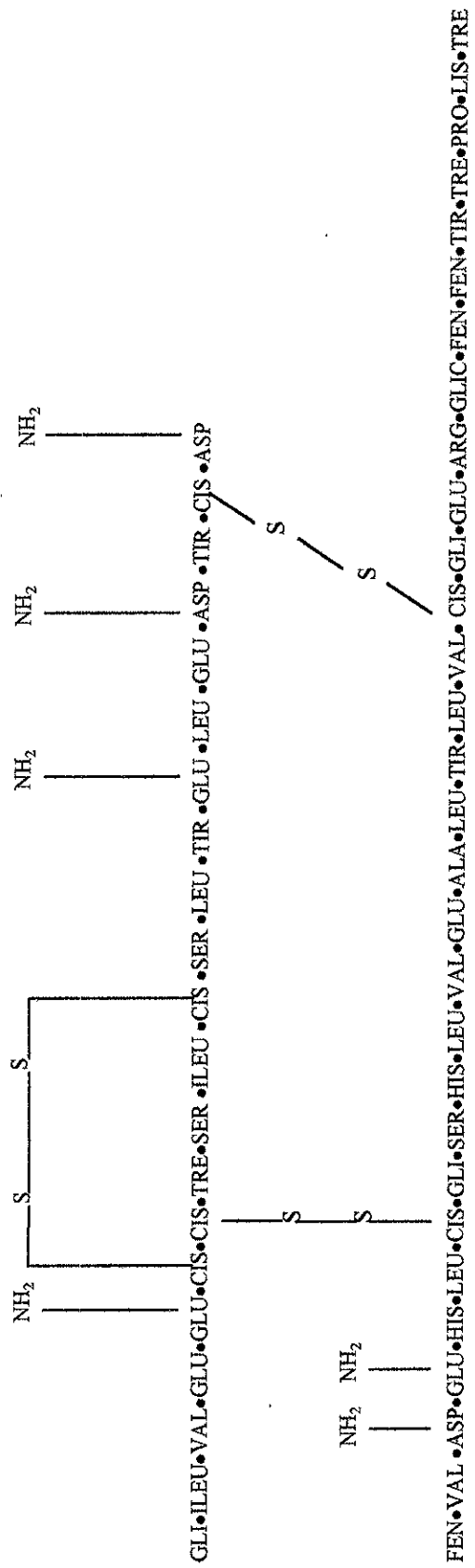


Figura I.3. Estructura de la insulina

HORAS

- Activación de enzimas intracelulares
- Activación del transporte de aminoácidos
- Estimulación de la síntesis de proteínas y lípidos
- Estimulación de la síntesis de ARN
- Estimulación de la síntesis de ADN

Ahora bien, cuando la cantidad de glucosa que entra en las células hepáticas es mayor de la que se puede almacenar como glucógeno se produce una conversión de todo el exceso de glucosa en ácidos grasos, los cuales van a formar triglicéridos y transportados a través de las lipoproteínas de muy baja densidad, hacia los adipocitos, depositándose en este tejido.

Así mismo la insulina aumenta el transporte de glucosa al interior de la mayor parte de las otras células del organismo y también su utilización (con excepción de las células cerebrales), de la misma manera que en las células musculares. El transporte de glucosa en los adipocitos es muy importante para proporcionar el glicerol necesario para el depósito de grasa a este nivel.

Para realizar sus efectos en la célula, la insulina se une con un receptor de membrana que tiene un peso molecular de aproximadamente 300 000 daltons. Es el receptor activado y no la insulina, el responsable de los efectos de la hormona. El receptor de la insulina es una glucoproteína formada por cuatro subunidades separadas, unidas por puentes disulfuro. Hay dos subunidades alfa, de localización extracelular y dos subunidades beta, que se sitúan en el interior de la membrana dando hacia el lado citoplasmático. La insulina se une a las subunidades alfa externas por medio de un puente disulfuro de la cadena A, pero a causa de las uniones con las subunidades beta, éstas se autofosforilan. Se convierte entonces en una enzima activada, una proteincinasa local, que fosforila a su vez

determinadas enzimas citosólicas. Su efecto final es la activación de ciertas enzimas con inactivación de otras.

La insulina también está involucrada en la regulación del volúmen celular de la siguiente manera (ver fig. I.4):

En respuesta a la acción de la insulina los iones se introducen en la célula (izquierda de la figura), la cual incrementa la osmolaridad intracelular, causando un flujo de agua hacia adentro e hinchazón de la célula. La hinchazón de la célula inducida por la insulina favorece la síntesis de proteínas, la cual reduce el número de aminoácidos (así como el número de partículas osmóticamente activas) dentro de la célula. La hormona glucagon tiene una función opuesta a la insulina e induce respuestas opuestas en el volumen de la célula. En presencia del glucagon el agua fluye hacia afuera de la célula causandole una contracción (derecha de la figura). En consecuencia la síntesis de proteínas dentro de la célula es inhibida, aumenta el número de aminoácidos libres, con lo que aumenta la osmolalidad y por lo tanto el flujo de agua hacia dentro de la célula. De esta forma, los cambios del volumen de la célula pueden ser un tipo de señal, la cual resulta en una gran escala de cambios en el metabolismo y funcionamiento de la célula (33).

1.4.2. GLUCAGON.

El glucagon es una hormona polipeptídica que secretan las células alfa de los islotes pancreáticos de Langerhans como respuesta a niveles bajos de glucosa sanguínea. Es la principal hormona para producir un incremento rápido de la concentración de glucosa en sangre (4,81).

Los dos principales efectos del glucagon sobre el metabolismo de la glucosa consisten en :

1. Desdoblamiento del glucógeno hepático a glucosa (glucogenólisis).
2. Incremento de la gluconeogénesis en el hígado.

Ambos efectos aumentan en gran medida la disponibilidad de la glucosa para otros órganos del cuerpo. Es importante mencionar que la capacidad del glucagón para llevar a cabo la glucogenólisis en el hígado es muy rápida, ya que aumenta la glucemia en un plazo de 10 minutos y que tan sólo unos pocos microgramos de glucagón pueden duplicar las concentraciones plasmáticas de glucosa (81).

1.4.3. ADRENALINA.

La adrenalina es una catecolamina que secreta la médula de las glándulas suprarrenales. Se libera como respuesta a la tensión física o emocional. Provoca un aumento inmediato en la producción de glucosa para obtener energía junto con el incremento de la frecuencia cardíaca, la presión arterial y otros efectos fisiológicos. La adrenalina solamente es glucogenolítica en la musculatura; el tejido adiposo, reacciona ante la acción de la adrenalina con un aumento de la lipólisis con elevación simultánea en el requerimiento de glucosa (33).

1.4.4. TIROXINA.

La tiroxina (T₄) es un aminoácido tetrayodado que secreta la glándula tiroides. Favorece la glucogenólisis y puede provocar agotamiento de las reservas de glucógeno en el hígado. También acelera la absorción de glucosa del intestino y puede producir tolerancia a la glucosa ligeramente anormal de tipo diabético en individuos hipertiroideos, aunque el nivel de glucosa sanguínea en ayunas sea

normal. La acción de la tiroxina es hiperglucémica, tiene un papel poco significativo en la regulación de la concentración de la glucosa en sangre (4).

1.4.5. HORMONA DEL CRECIMIENTO.

La hormona del crecimiento (GH), llamada también somatotropina, es un polipéptido que secreta la pituitaria anterior. La acción de la GH es antagonista a la insulina porque inhibe el consumo de glucosa de los tejidos y estimula la glucogenólisis hepática elevando así la concentración de glucosa sanguínea.

La hormona del crecimiento tiene una acción estimuladora de lipólisis y cetogénesis después de 2 a 3 horas, estos efectos pueden ser importantes en la adaptación al estrés y al ayuno, lo cual es acompañado por un decremento en la sensibilidad a la insulina en el hígado y en el músculo. Estos efectos pueden ser muy importantes en pacientes insulino dependientes, en quienes el incremento de la secreción de la GH puede precipitar y mantener un estado metabólico alterado (cetoacidosis). Por otro lado como ya se mencionó juega un papel benéfico en contra de la hipoglucemia, en particular durante hipoglucemia prolongada y en pacientes con la capacidad alterada de secretar adecuadamente otras hormonas contrareguladoras (69).

1.4.6.HORMONA ADRENOCORTICOTRÓPICA.

La hormona adrenocorticotrópica (ACTH), llamada también corticotropina, aumenta la concentración de glucosa en sangre por su acción antagonista a la insulina.

1.4.7. CORTISOL, SOMATOSTATINA Y SOMATOMEDINAS.

- A) El cortisol y otros 11-desoxi-esteroides secretados por la corteza de la glándula suprarrenal elevan la concentración de glucosa en sangre por estimulación de la gluconeogénesis, aumentan la síntesis de glucógeno, e inhiben la oxidación de glucosa en el músculo, esto último debido a la inhibición de la fosforilación de glucosa, cuando hay déficit simultáneo de insulina, por lo que la glucemia disminuye (4, 69).
- B) La somatostatina es una hormona polipeptídica que inhibe la secreción de insulina y glucagon y la hormona del crecimiento, por lo tanto, modula su acción recíproca. Además de existir en el hipotálamo y en los islotes pancreáticos, la somatostatina se encuentra en numerosos tejidos gastrointestinales, donde se considera que regula diversas funciones y en múltiples sitios del sistema nervioso central, donde puede ser un neurotransmisor.

La somatostatina inhibe la liberación de otras hormonas de los islotes pancreáticos por medio de una acción paracrina. En cantidades farmacológicas, la somatostatina amortigua en forma significativa la cetosis ligada con la deficiencia aguda de insulina. Aparentemente esta acción se debe a su capacidad para inhibir la liberación de glucagon que acompaña a la insulinopenia. También reduce el paso de nutrientes desde las vías digestivas a la circulación, debido a que (70):

- Prolonga el vaciamiento gástrico
- Reduce la secreción de gastrina y por lo tanto la producción de ácido gástrico
- Abate la secreción pancreática de exocinas (enzimas digestivas)
- Decrece la circulación sanguínea esplénica y
- Hace lenta la absorción de glucosa

- C) Las somatomedinas son péptidos que se producen en el hígado como respuesta a la estimulación de la hormona del crecimiento. Las somatomedinas son un grupo de hormonas similares a la insulina, que incluye la somatomedina A, la somatomedina C y los factores de crecimiento I y II (4),
- D) Los factores de crecimiento parecidos a la insulina, tiene una acción parecida a ésta, la cual puede ser mediada por un receptor especial para el factor de crecimiento o el receptor estructuralmente afin de la insulina. Estudios *in vivo* indican que el factor de crecimiento I puede actuar como un potente agente glucorregulador. Debido a este potencial para incrementar la disposición de glucosa, suprimir la secreción de la hormona del crecimiento y vencer la resistencia a la insulina, el factor de crecimiento I ha sido involucrado en muchos estudios con sujetos diabéticos tanto insulino dependientes como no insulino dependientes, incluyendo aquellos con síndrome de resistencia a la insulina (81).

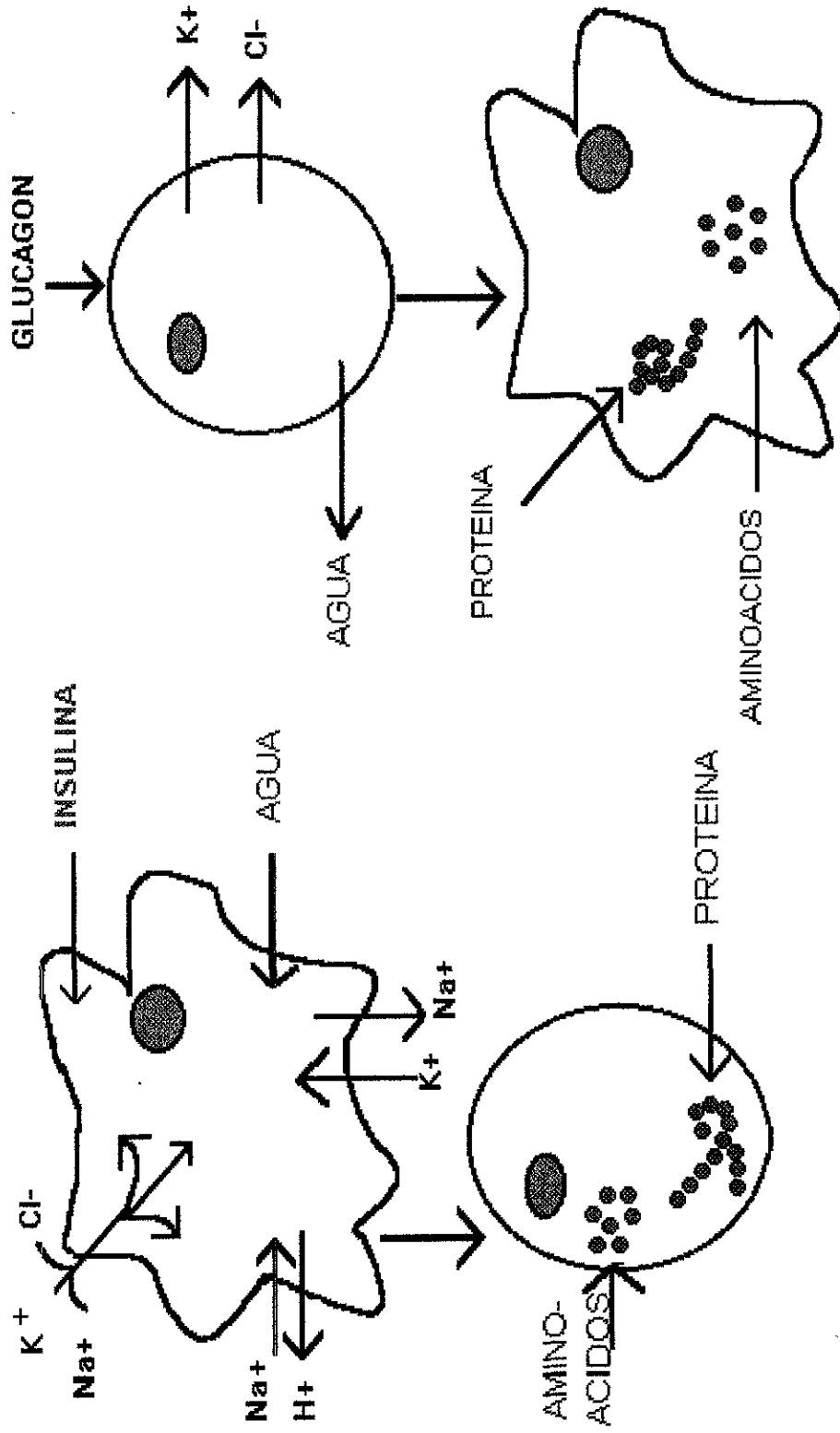


FIGURA I.4. CONTROL HORMONAL DEL VOLUMEN CELULAR

2. DIABETES.

2.1. DEFINICIÓN.

La *Diabetes mellitus* es una enfermedad en la que el sujeto que la padece tiene alteraciones del metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas, con una relativa o absoluta deficiencia en la secreción de insulina y con grados variables de resistencia a ésta. Cuando la enfermedad alcanza pleno desarrollo, se caracteriza por hiperglucemia en ayunas y desarrollo de cetoacidosis (49); y en la mayoría de los pacientes con larga evolución de la enfermedad, por complicaciones microangiopáticas, en especial renales y de los ojos, así como macroangiopatía con afección de arterias coronarias, enfermedad vascular periférica, y una predisposición al desarrollo de aterosclerosis (93).

Aunque las principales diferencias fenotípicas en los distintos tipos de diabetes se conocen desde hace muchos años, sólo en la última década se incrementó el conocimiento de la etiopatogenia de la enfermedad. Hasta ahora indica que la diabetes no es la simple elevación de glucosa en sangre, sino un trastorno muy heterogéneo que implica varias anormalidades. Esta heterogeneidad significa que hay diferencias entre grupos de pacientes en cuanto etiología y patogenia genéticas, ambientales e inmunológicas, así como en la respuesta al tratamiento. De tal forma, la diabetes no es una enfermedad simple, sino un síndrome que debe enfocarse desde el punto de vista integral (49).

2.2. CLASIFICACIÓN.

La *Diabetes mellitus* podría clasificarse con base en la etiología o la patogenia. Para que una clasificación sea útil al clínico se deben de tomar en cuenta aspectos de diagnóstico y tratamiento, aspectos epidemiológicos y de investigación.

Los datos que permiten definir el tipo de diabetes en un contexto clínico incluyen: edad de inicio, rapidez de instalación del cuadro, presencia de anticuerpos, cantidad de insulina, factores desencadenantes, tendencia a la cetosis y a la hipoglucemia, peso al inicio del padecimiento y rapidez de pérdida de él a partir de entonces.

Enseguida se presenta la clasificación que propuso el Comité de Expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1985 (49,93):

A. Clases Clínicas.

a) *Diabetes mellitus.*

- * *Diabetes mellitus* dependiente de insulina (DMID).

- * *Diabetes mellitus* no dependiente de insulina (DMNID).
 - No obeso.
 - Obeso.

- * *Diabetes mellitus* relacionada con malnutrición (DMRMN).
 - Diabetes pancreática fibrocalculosa.
 - Diabetes relacionada con desnutrición con deficiencia proteica.
- * *Diabetes mellitus* gestacional (DMG).

b) Anormalidades de la Tolerancia a la Glucosa.

No obeso.

Obeso.

Asociada con otras situaciones o síndromes.

B. Clases con Riesgo Estadístico.

Anormalidad previa de tolerancia a la glucosa.

Anormalidad potencial de tolerancia a la glucosa.

En esta clasificación se ha abandonado la terminología previa como diabetes química, limítrofe, subclínica, latente y diabetes asintomática.

Recientemente en junio de 1996 la American Association (10) propuso la siguiente clasificación:

1. *Diabetes mellitus* Tipo I.

* Autoinmune.

* No autoinmune.

* Asociada a otras patologías.

 Enfermedad pancreática.

 Drogas.

 Toxinas.

 Síndromes genéticos.

 Infecciones.

 Idiopáticas.

2. *Diabetes mellitus* Tipo II.

- * Común.
- * Asociada a otras causas.
 - Síndromes genéticos.
 - Drogas.
 - Enfermedades endócrinas.
 - Defectos genéticos.
 - Misceláneas.

3. *Diabetes mellitus* Gestacional.

2.3. DIABETES MELLITUS INSULINO DEPENDIENTE.

2.3.1. EPIDEMIOLOGÍA.

La *Diabetes mellitus* Insulino Dependiente (DMID) o tipo I representa cerca del 10% de todos los diabéticos del mundo occidental. La incidencia de la *Diabetes mellitus* tipo I varía según los países; en un extremo tenemos a Japón con una incidencia de 2/100 000 habitantes por año y en el otro extremo a Finlandia con 40/100 000 habitantes por año (7,27).

La *Diabetes mellitus* Insulino Dependiente generalmente se presenta en los primeros años de vida, ya sea en la infancia o en la adolescencia, apareciendo súbitamente con las manifestaciones de hiperglucemia y cetosis. En los países en vías de desarrollo, la mayoría de los niños con este padecimiento mueren dentro de los siguientes 5 años del diagnóstico, mientras que en los países

“industrializados” la expectativa de vida es aproximadamente del 70 al 80% de la población general (49).

Los síntomas de la diabetes pueden aparecer tras un período clínicamente silencioso de progresiva destrucción de las células beta que puede durar meses o años. Este período se caracteriza por la aparición de marcadores inmunológicos. Las alteraciones de la homeostasis de la glucosa ocurren solamente cuando el proceso autoinmune ha destruido alrededor del 80% de las células beta. Tras el comienzo de la diabetes y una vez iniciado el tratamiento con insulina, puede observarse una fase llamada de remisión, ésta se caracteriza por el buen control ejercido sobre el metabolismo de la glucosa con una pequeña o nula dosis de insulina. Esta situación transitoria, probablemente debida a un aumento en la secreción residual de insulina y a su mejor utilización en la periferia, continua durante pocas semanas o meses hasta que la totalidad de la masa de células beta está completamente destruida, por lo que la hiperglucemia se vuelve permanente y los signos clínicos de la diabetes se vuelven irreversibles (27).

2.3.2. GENÉTICA.

La existencia de una predisposición genética viene demostrada por los siguientes datos: la aparición de la enfermedad en ambos gemelos de una pareja *monocigota* es alta (25-50%); se ha demostrado la existencia de una asociación entre la enfermedad y ciertos antígenos del sistema principal de histocompatibilidad HLA; el 95 % de los diabéticos de origen caucasiano presenta antígenos DR3, DR4 o ambos, mientras estos antígenos solamente están presentes entre el 50 y el 60% de los sujetos normales. El riesgo de padecer la enfermedad para el hermano de un diabético es proporcional al número de haplotipos HLA compartidos por los dos: un 1% si no se comparten haplotipos, un 5% si se comparte uno y un 15% si se

comparten los dos. La tasa de aparición de la enfermedad en gemelos idénticos es mayor cuando ambos son DR3 o DR4 positivos; utilizando el análisis directo del ADN a través de sondas génicas, se encuentra una asociación estrecha entre la enfermedad y los genes en el locus DQ, especialmente DQA1 y DQB1. La predisposición genética a la enfermedad depende, probablemente de la ausencia de ácido aspártico en la posición 57 de la cadena beta de los antígenos DQB1 y /o la ausencia de arginina en la posición 52 de los antígenos DQA1 (7,27). Las asociaciones entre los haplotipos DQ y DR se muestran en el cuadro II.1 (85).

Las asociaciones de DR del HLA en no caucasianos son similares pero no idénticas. En Japón hay una fuerte relación en heterocigotos asociados con DR4/9, con diabetes y en pacientes negros (predominantemente jamaquinos) se asocian a los haplotipos DR3,4,7 y 9 (52,95).

Un rasgo adicional revelado por la tipificación del HLA es el efecto aparentemente protector de ciertos haplotipos del complejo mayor de histocompatibilidad MHC. En particular, el HLA-DR2 es raro en pacientes diabéticos y se ha encontrado una débil asociación negativa con DR5. Hasta ahora ha sido difícil distinguir entre la posible acción protectora de estos alelos y su relativa disminución en relación al exceso de DR3 y DR4 en la población de diabéticos (95).

Otro gen que se ha relacionado con la susceptibilidad de la DMID (7) se encuentra en el cromosoma 11 cerca de los genes para la insulina y el factor de crecimiento parecido a la insulina II. También se relaciona con los genes que codifican para el TAP (péptido transportador involucrado en la presentación de antígeno).

HLA-DRa	HLA-DQ	ASOCIACIÓN	POSICIÓN SOBRE LA CADENA DQβ
1	w1.1(w5)	Positiva	Valina
2 (w15) ^b	w1.2 (w6)	Negativa	Ácido aspártico
2 (w16)	w1. AZH (w5)	Positiva	Serina
3 (w17)	w2	Positiva	Alanina
4	w3.1 (w7)	Negativa/neutral	Ácido aspártico
4	w3.2 (w8)	Positiva	Alanina
5	w3.1 (w7)	Negativa/neutral	Ácido aspártico
w6 (w13)	w1.18 (w6)	Negativa	Ácido aspártico
w6 (w13)	w1.19 (w6)	Positiva	Valina
7	w2	Neutral	Alanina

a Solo se muestran los principales alelos HLA-DR.

b Las designaciones en paréntesis son los nombres aplicados recientemente.

CUADRO II.1. Principales haplotipos HLA-DR y DQ y su asociación con diabetes en Caucásianos.

2.3.3. PATOGÉNESIS E HISTORIA NATURAL.

La DMID es el resultado de un proceso autoinmune crónico que existe en una fase pre-clínica durante años, sin embargo alguna vez se vio como una enfermedad que tenía un desarrollo rápido, parecido al que ocurre en una infección viral. En realidad, las manifestaciones clásicas de la DMID -la hiperglucemia y la cetosis- ocurren cuando el curso de la enfermedad está avanzado, es decir, después de que la mayoría de las células beta han sido destruidas.

2.3.3.1. INSULITIS.

En el paciente con DMID en estado avanzado, el rasgo histológico más sobresaliente es la carencia casi total de células beta secretoras de insulina; en contraste se conservan los islotes de células secretoras de glucagon (células alfa), somatostatina (células delta) o polipéptido pancreático (células polipeptido-pancreáticas). Debido a que las células beta constituyen aproximadamente un 70% de las células de los islotes normales, un paciente en estado avanzado de DMID presenta islotes anormalmente pequeños. Además presentan una leve fibrosis intersticial y atrofia exócrina.

Cuando inicia la DMID o un corto tiempo después de su inicio, la mayoría de los islotes son deficientes en células beta, igual que los islotes de pacientes en estado avanzado de la enfermedad. Los islotes remanentes que no tienen deficiencias de células beta, tienen sus células con un núcleo alargado, un número variable de células degranuladas y un infiltrado inflamatorio crónico comúnmente llamado INSULITIS. El infiltrado consiste en su mayoría de células CD8, un número variable de células CD4, linfocitos B, macrófagos y células asesinas (NK). Está incrementada la expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA) de clase I en los islotes, y las moléculas de HLA de clase II pueden estar sobreexpresadas en las células beta, macrófagos o en el endotelio. También se encuentra incrementada la expresión de la molécula I de adhesión intercelular sobre el endotelio vascular de los islotes, una característica que favorece la adhesión y acumulación de las células endoteliales (7,27).

Se piensa que esta respuesta inflamatoria se induce por radicales libres como superóxidos y óxido nítrico. Estos dos factores han sido implicados como mediadores de daño a la célula beta, ya que las enzimas que reducen el daño por radicales superóxido (como la superóxido dismutasa) están expresadas débilmente

en las células beta. La estimulación por las citocinas induce la producción abundante de óxido nítrico, el cual es letal para las células (39).

En el paciente con un diagnóstico reciente de DMID la distribución en el páncreas de los islotes que presentan insulinitis es sorprendentemente desigual. Los islotes en un lóbulo pancreático podrían parecer normales, mientras que en los lóbulos adyacentes quizás sean pequeños o con una marcada insulinitis.

Esta variabilidad refleja la diferencia en la actividad secretoria de insulina que presentan los islotes y muestran que la mayoría de las células inician un deterioro de la actividad metabólica. Los estudios histológicos sugieren que para inducir los síntomas de la DMID se requiere una reducción del 80% del volumen de células beta.

2.3.3.2. AUTOANTICUERPOS Y MARCADORES METABÓLICOS.

Varias anomalías inmunológicas están presentes en el momento del inicio de diabetes y en el período precedente a la aparición clínica de la enfermedad:

- a) anticuerpos dirigidos contra las células beta entre un 55 y un 80% de los diabéticos (ICA dirigidos frente a los antígenos citoplasmáticos; cfiCA: fijación de complemento; ICSA: dirigidos contra los antígenos de superficie).
- b) anticuerpos anti-insulina en un 30% de los casos.

Estudios familiares han demostrado que los anticuerpos fijadores de complemento y los anticuerpos anti-insulina son dos signos inmunológicos muy valiosos para predecir la enfermedad (7,27,93,95).

Dos anticuerpos que han sido de gran utilidad para definir la historia natural de la DMID son: los anticuerpos dirigidos contra los antígenos citoplásmicos y los

anticuerpos contra la insulina. Los anticuerpos contra los antígenos citoplásmicos reaccionan con los antígenos localizados en el citoplasma de todas las células endócrinas de los islotes pancreáticos y son detectados por microscopía inmunofluorescente indirecta. Estos antígenos se encuentran en el suero de aproximadamente 0.5% de los sujetos normales, de 3 a 4% de parientes no diabéticos de pacientes con DMID y en un 70 a 80% de pacientes con diagnóstico reciente de DMID.

Los anticuerpos contra la insulina están presentes en el suero de alrededor del 50% de los pacientes con diagnóstico reciente de DMID antes de cualquier administración de insulina. La aparición de estos anticuerpos en sujetos normales y en familiares no diabéticos de pacientes con DMID es similar a la aparición de los anticuerpos contra los antígenos citoplásmicos.

La frecuencia de los anticuerpos anti-insulina se incrementa en sujetos que presentan conjuntamente anticuerpos frente a antígenos citoplásmicos y con haplotipo HLA-DR4, lo que confiere mayor riesgo que si solo presenta uno de los dos anticuerpos.

Se ha encontrado que los anticuerpos anti-insulina correlacionan inversamente con la edad como marcadores tanto en pacientes con diagnóstico reciente de DMID, así como de sus familiares no diabéticos, lo que sugiere que la presencia de estos anticuerpos en sujetos jóvenes puede ser un índice de una rápida destrucción de las células beta del islote y una más rápida progresión de la enfermedad en los jóvenes que en los adultos.

Cuando la enfermedad progresa y aparecen los síntomas clínicos de la DMID se presenta una reducción en la respuesta normal temprana de la insulina a la administración de glucosa intravenosa; una reducción en la capacidad de las células beta para responder a la arginina o tolbutamida (hipoglucemiantes orales) y

una elevación rápida de las concentraciones de glucosa plasmática en ayuno e intolerancia oral a la glucosa. Conjuntamente con la progresiva insulinopenia se presenta un grado variable de resistencia a la insulina, lo que puede determinar el inicio de la hiperglucemia (7).

2.3.3.3. ANTÍGENOS DE LAS CÉLULAS DE LOS ISLOTES.

Se ha asociado un número de antígenos de las células de los islotes con la DMID y se requiere de una mejor caracterización para ampliar el entendimiento del papel de la respuesta inmune celular en la enfermedad y aclarar así si la presentación de antígenos es una función de susceptibilidad o de resistencia a la DMID, además de poder dar el tratamiento dirigido contra los antígenos específicos para prevenir la enfermedad. Los siguientes antígenos pueden estar involucrados en la patogénesis de la DMID :

- ◇ Proteína de 64 kd (glutamato descarboxilasa)
- ◇ Fracciones de la proteína de 64 kd, específicamente fragmentos de 37, 38 y 40 kd
- ◇ Proteína ácido glutamato descarboxilasa 65
- ◇ Carboxipeptidasa H
- ◇ Proteína de 57 kd
- ◇ Proteína de 69 kd

Uno de los antígenos citoplásmico ha sido identificado como un sialoconjugado pancreático. Se han encontrado también anticuerpos contra la proteína de 64 kd de las células de los islotes; esta proteína se ha identificado bioquímicamente como la glutamato descarboxilasa y se piensa que estos anticuerpos pueden ser utilizados para predecir la enfermedad. Otros anticuerpos

contra los antígenos citoplásmicos de los islotes también reaccionan contra la glutamato descarboxilasa, por lo que pueden ser utilizados para identificar sujetos con un bajo riesgo de progresión de la DMID, aún más que los anticuerpos que reaccionan con otros antígenos del citoplasma de los islotes, diferentes a la glutamato descarboxilasa. Así mismo se ha observado la presencia de anticuerpos contra tres fragmentos de la proteína de 64 kd, el de 37 kd, 38 kd y 40 kd; un estudio en gemelos idénticos mostró que los anticuerpos contra el fragmento de 37 kd fue mejor predictor de la enfermedad que los anticuerpos contra la proteína de 64 kd (7).

Se ha encontrado que otro factor que inicia la aparición de la DMID son las infecciones causadas por virus. Los estudios realizados al momento han demostrado la presencia de anticuerpos IgM frente al virus Coxsackie B, y se han detectado nucleótidos con secuencias homólogas a los virus Coxsackie B3 y B4. Se piensa que el mecanismo envuelve la inducción de autoinmunidad a los islotes celulares mediante una vía molecular similar entre la proteína humana GAD 65 (ácido glutamato descarboxilasa) y la proteína Coxsackie P2 (7,26,27,95).

El suero de pacientes con un alto riesgo de padecer DMID pueden también reaccionar con la carboxipeptidasa H, una enzima localizada en los gránulos secretorios de las células beta que cataliza la conversión de proinsulina en insulina. En pacientes con DMID se ha encontrado que la IgG sérica inhibe la captación de 3-o-metil-beta-D-glucosa en las células de los islotes, así como anticuerpos contra el transportador de glucosa GLUT-2 de las células beta .

Se han reportado anticuerpos contra el antígeno de 57 kd de las células de los islotes en pacientes con diagnóstico reciente de la enfermedad, y éste antígeno se relaciona con el virus de la rubéola. Para estudiar la relación inmunológica entre el virus de la rubéola y la DMID, se examinó un panel de anticuerpos contra la cápside del virus de la rubéola (una glucoproteína de la envoltura del virus) y en

contra de las células del islote pancreático de humanos. Este estudio mostró que un epítotope de la cápside del virus de la rubéola es similar a la estructura de una proteína de la célula beta, lo que sugiere que el virus de la rubéola tiene potencial para sensibilizar a individuos susceptibles y despertar una respuesta inmune que puede contribuir a la destrucción de las células beta (54).

En relación con la dieta se ha mostrado una proporcionalidad entre la incidencia de diabetes y el porcentaje de sujetos alimentados desde los primeros meses de vida con leche entera de vaca, ya que se han encontrado anticuerpos contra la albúmina sérica bovina cuya estructura es parecida a la proteína de 69 kd de la célula beta y al aminoácido 17 llamado ABBOS (7).

2.3.3.4. INMUNIDAD CELULAR.

En lo que concierne a la inmunidad celular, se han hallado diversas alteraciones tales como una reducción en el número total de linfocitos T, incremento de la actividad de los linfocitos T, modificación de la relación entre las células CD4 y CD8, aumento en la actividad de las células citotóxicas y citotoxicidad anti-insulínica elevada. La expresión de moléculas de HLA clase I están disminuidas en las células beta, macrófagos y/o endotelio. Dentro de estos islotes hay producción de interleucinas; esto es importante por que la interleucina (IL) 1 inhibe la secreción de la insulina y en grandes cantidades es citotóxica. La IL-6 sobresatura la respuesta inmune y da paso a la destrucción de las células beta. Se ha encontrado también interferón alfa en el páncreas de pacientes muertos por cetoacidosis diabética (7,26,56).

2.3.3.5. MODELOS DE LOS MECANISMOS AUTOINMUNES.

Se proponen dos modelos para explicar la autoinmunidad de las células beta.

En el primer modelo (Fig. II.1A) el proceso de la autoinmunidad empieza con una respuesta inmune contra una célula infectada (diferente a la célula beta) con un virus, cuyas proteínas comparten una secuencia de aminoácidos con una proteína de la célula beta (que puede ser la glutamato descarboxilasa). La célula infectada presenta el antígeno viral procesado, al receptor del linfocito CD8 mediante las moléculas HLA de clase I. Al mismo tiempo los macrófagos infectados con el virus presentan el péptido viral a los linfocitos CD4 mediante las moléculas HLA de clase II. Las células CD4 cooperan con las células CD8 para que éstas ejerzan su efecto citotóxico y destruyan a las células beta que expresen un péptido común, tanto en las células beta como en la proteína viral.

En el segundo modelo (Fig II.1B) una infección viral de la células beta incrementa la liberación de citocinas (por ejemplo interferon alfa) y la adhesión de leucocitos dentro de los islotes pancreáticos, por lo que la célula beta infectada es susceptible al ataque directo de los linfocitos citotóxicos antivirales. Las citocinas y los radicales libres producidos por los macrófagos activados dentro de los islotes pueden aumentar la respuesta citotóxica a las células beta y pueden atraer a los linfocitos CD4 a la lesión. Los macrófagos presentan los antígenos virales a los linfocitos CD4, los cuales activan a los linfocitos B y estos secretan anticuerpos antivirales.

En ambos casos se presentan autoantígenos derivados de las células beta dañadas por el virus, en consecuencia se producen linfocitos y auto anticuerpos que reaccionan contra las proteínas de las células beta (7).

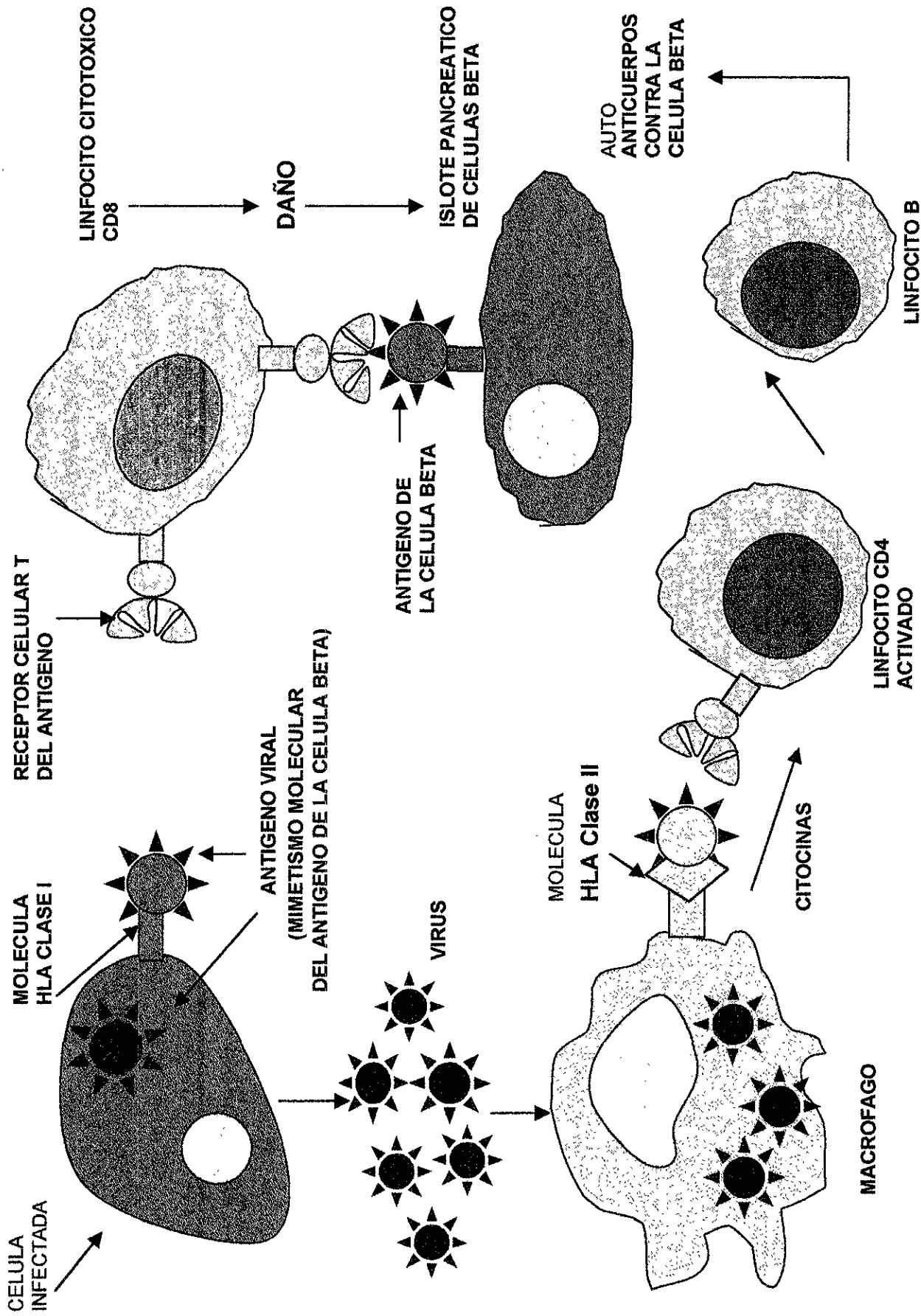


Figura II.1.A Primer modelo de las bases autoinmunes de la DMID

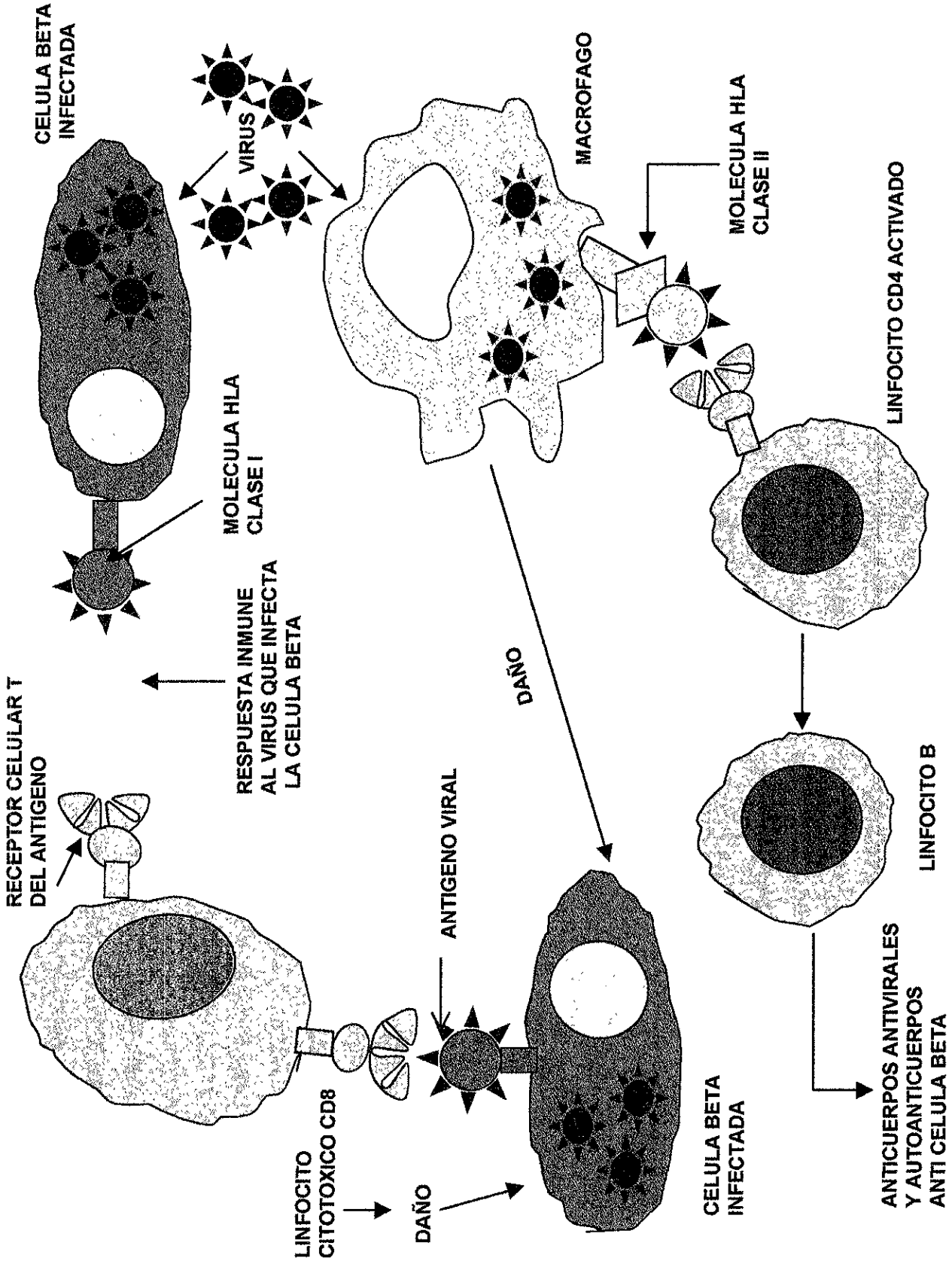


Figura II.1. B. Segundo modelo las bases autoinmunes de la DMID

2.4. DIABETES MELLITUS NO INSULINO DEPENDIENTE.

La *Diabetes mellitus* no insulino dependiente (DMNID) o tipo II representa a casi el 90% de todos los diabéticos del mundo occidental y puede aparecer a cualquier edad. Se calcula que en 1994 habían 110.4 millones de diabéticos en el mundo. Las proyecciones para el año 2000 son de 174.4 millones y para el 2010 se esperan 230.3 millones de afectados por esta enfermedad en el planeta. Habitualmente se identifica en la etapa adulta, la mayor parte de los pacientes son o han sido obesos, y el factor "herencia" comúnmente está presente. El diagnóstico se establece entre la edad adulta, alrededor de la cuarta o quinta década de la vida (49,71).

Durante muchos años los pacientes son asintomáticos, pueden presentar hiperglucemia como consecuencia de una complicación aguda (cirugía, infecciones, traumatismos y estrés emocional), no son propensos a la cetoacidosis, excepto durante períodos de estrés. Aún cuando no son dependientes de la insulina exógena para sobrevivir, pueden necesitarla en determinadas ocasiones y son pocos los pacientes que requieren su administración permanente.

Los pacientes con DMNID pueden o no presentar los síntomas clásicos de la hiperglucemia, poliuria, adelgazamiento, astenia, polidipsia y polifagia y no es raro que se identifiquen en etapas tardías por la presencia de complicaciones crónicas micro o macrovasculares (49,82).

En la patogenia de la DMNID se ha sugerido que pueden estar involucradas varias etapas progresivas (Fig II.2.), especialmente (43):

- a) Susceptibilidad genética.
- b) Hiperinsulinemia y/o resistencia a la insulina.

- c) Tolerancia a la glucosa alterada.
- d) Diabetes mellitus no insulino dependiente.

2.4.1. RESISTENCIA A LA INSULINA E HIPERINSULINEMIA.

La resistencia a la insulina es un factor esencial en la patogenia de la DMNID, pero es casi imposible determinar en humanos si ésta precede a la hiperinsulinemia en la patogenia de la enfermedad.

La resistencia a la insulina es convencionalmente definida como un cambio en el rango de eliminación de la glucosa dado por un cambio de unidad en la concentración de insulina (40). Clásicamente se define como el requerimiento de 200 U o más de insulina durante 2 o más días en ausencia de infección o alguna otra situación de estrés (1). Comúnmente se define como la incapacidad de la insulina para llevar a acabo su función biológica.

El mecanismo de la resistencia a la insulina, es el siguiente: la insulina disminuye la glucosa sanguínea por inhibición en la producción de glucosa hepática (glucogenólisis) y por la estimulación del músculo esquelético a utilizar glucosa. Ambas acciones están dañadas en sujetos con tolerancia a la glucosa alterada y DMNID. Por las dificultades metodológicas, el estudio se ha enfatizado más en músculo esquelético que en hígado (46).

En el músculo esquelético la habilidad de la insulina para estimular a una mayor utilización de glucosa depende de la capacidad de la insulina para aumentar el flujo sanguíneo y la extracción de glucosa desde la sangre. En pacientes con DMNID ambos efectos están alterados (46).

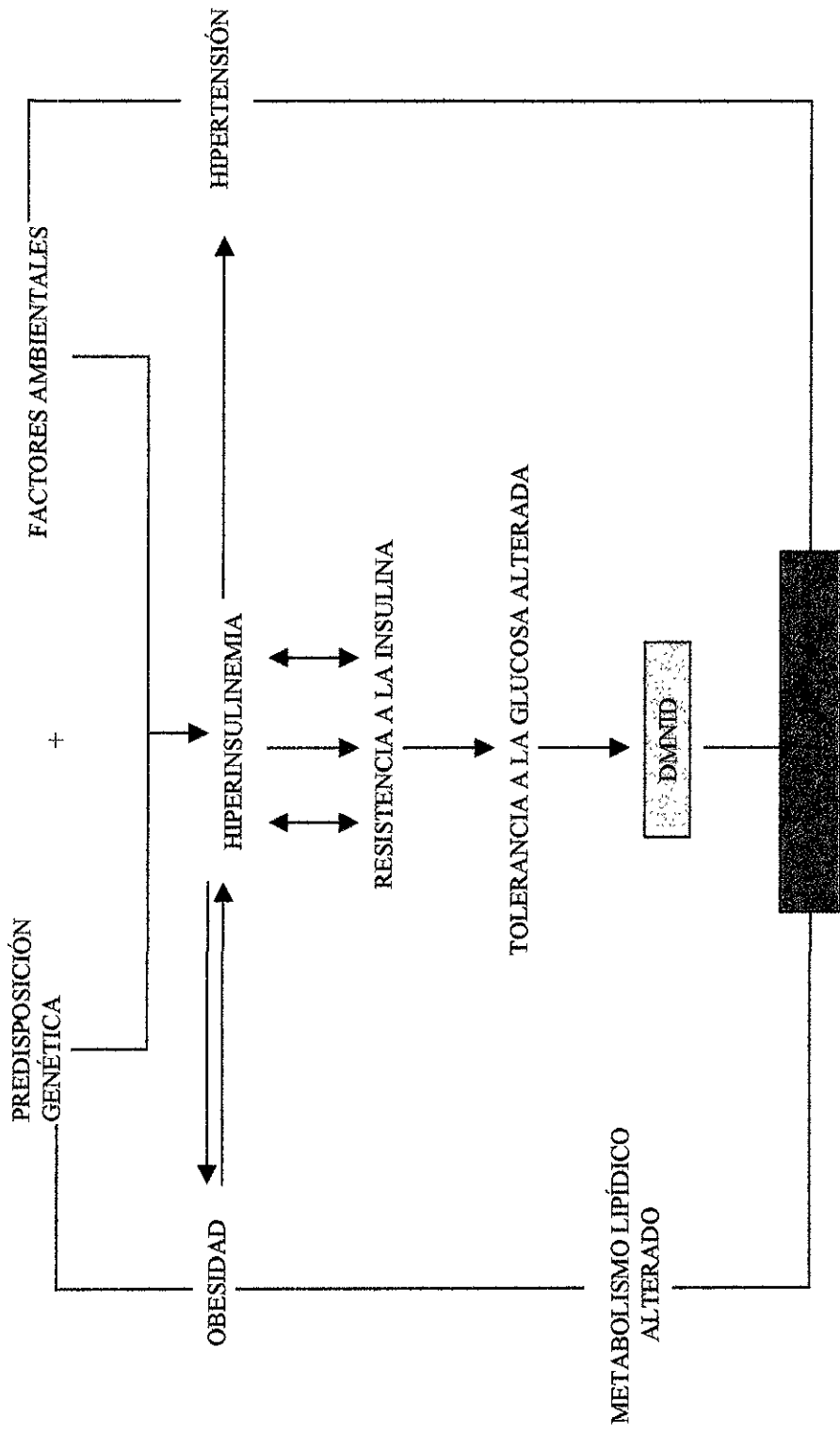


Figura II.2. Relaciones existentes entre los factores principales involucrados en la patogenia de la DMNID

La respuesta celular a la insulina es mediada a través de un receptor específico (97). El receptor está formado por dos subunidades alfa, las cuales son extracelulares y poseen los dominios de unión a la insulina y dos subunidades beta, las cuales atraviesan la membrana plasmática y tienen actividad de tirosin cinasa en sus dominios intracelulares. Cuando la insulina se une a la subunidad alfa, la subunidad beta sufre un cambio conformacional que produce autofosforilación de varios de sus residuos de tirosina. La mayor parte de los eventos metabólicos iniciados por la unión de la insulina a su receptor requieren un sustrato proteico para que el receptor de la insulina lleve a cabo su actividad de tirosin-cinasa. Esta proteína se llama sustrato 1 para el receptor de la insulina (IRS-1), una molécula que esta asociada al IRS-1 es la fosfatidil inositol-3-cinasa (PI-3 cinasa), la cual es una enzima heterodimérica, compuesta de una subunidad reguladora p85 y una subunidad catalítica p110. El complejo activo IRS-1/PI-3 fosforila varios compuestos fosfatidil inositol para producir moléculas de señal.

Estos eventos conducen a la síntesis de proteínas, síntesis de DNA, activación de cinasas, fosforilación de factores de transcripción y metabolismo de lípidos.

Por otro lado la unión de insulina a su receptor conduce a la activación del complejo RAS (proteína que une GTP y que posee actividad de GTPasa). El complejo RAS activo, activa la cinasa Raf-1, ésta fosforila y activa la MAPKK (cinasa de la protein cinasa activada por mitógenos), esta a su vez fosforila y activa la MAP cinasa, la cual fosforila y activa la pp90s6 cinasa, esta a su vez activa a la proteín fosfatasa asociada al glucógeno (PPG-1), esta última enzima desfosforila y activa la glucógeno sintetasa y desfosforila e inactiva la fosforilasa cinasa y la glucógeno fosforilasa. (ver figura II.3)

La resistencia a la insulina puede ser localizada a nivel de pre-receptor, receptor o post-receptor. Aunque algunos estudios han demostrado decremento en la actividad receptor-insulina en la DMNID, se piensa que una combinación de

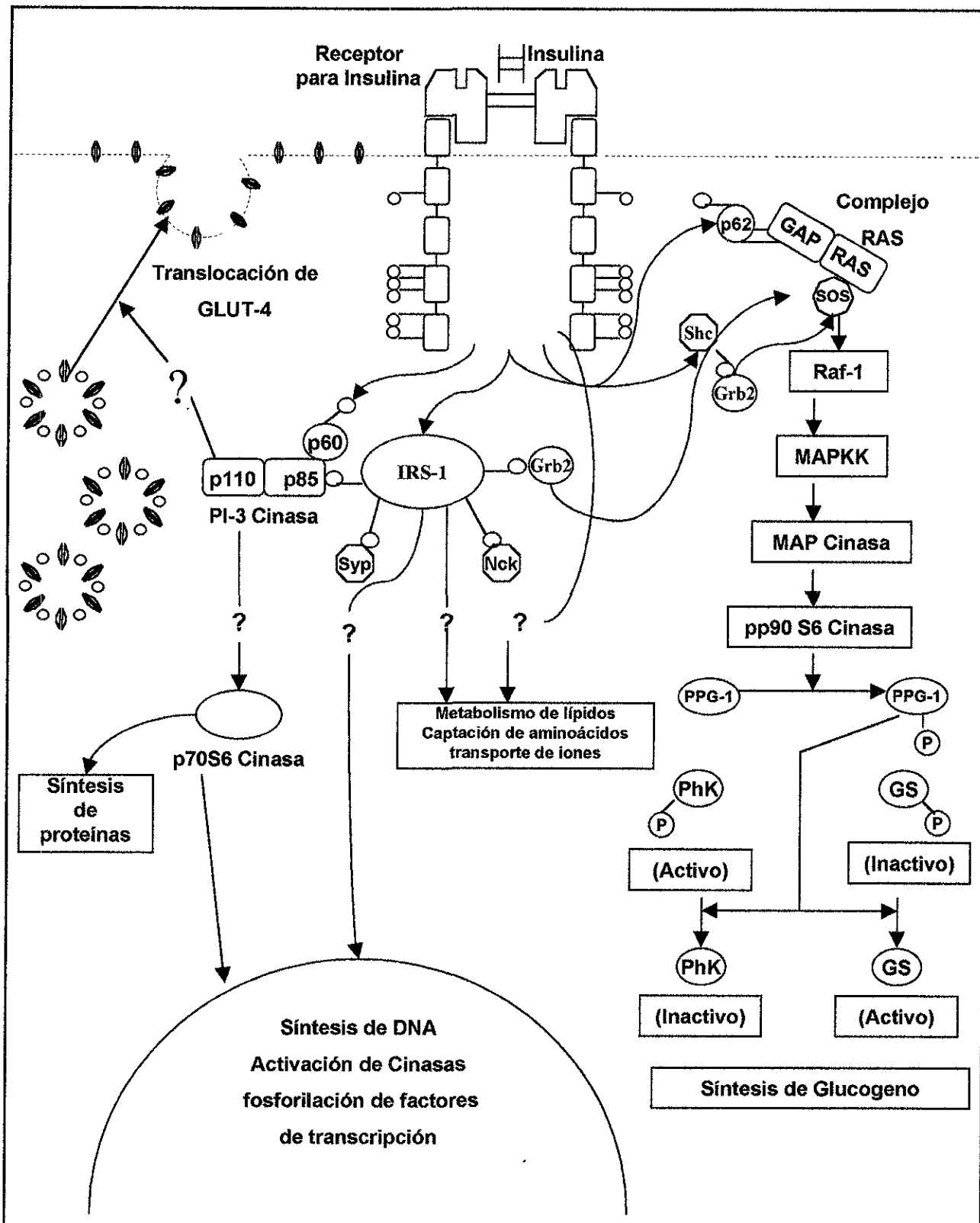


Figura II.3 Señales intracelulares que se activan cuando la insulina se une a su receptor

defectos intracelulares del receptor (25) y post-receptor es la principal determinante del estado de resistencia a la insulina (10). Los defectos potenciales en la cascada de señales de la insulina son resumidos en la fig. II.4 (46).

Los familiares de pacientes con DMNID que tienen una tolerancia normal a la glucosa se caracterizan por tener hiperinsulinemia y resistencia a la insulina a diferencia de familiares que no tienen un historial diabético. En individuos con intolerancia a la glucosa, la resistencia a la insulina es más notoria que en los que poseen una tolerancia normal. Además, un valor pospandrial alto de insulina, así como el grado de resistencia a la misma predicen una transición desde la intolerancia de la glucosa hacia la diabetes.

La hiperinsulinemia parece tener un papel crucial en el desarrollo de la DMNID, aunque es difícil saber, como ya se mencionó, si precede a la resistencia a la insulina. También existe una interrelación estrecha y compleja entre la disminución de la sensibilidad a la insulina y/o la hiperinsulinemia con obesidad, la alteración de la tolerancia a la glucosa y la hipertensión, lo cual tiende a ocurrir conjuntamente en la DMNID (92). Además cuando existe hiperinsulinemia, hay un aumento en la producción hepática de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y por consiguiente hipertrigliceridemia, contribuyendo esto a las complicaciones macrovasculares (80).

La resistencia a la acción glucoreguladora de la insulina conduce a una hiperinsulinemia "compensatoria" para mantener una concentración normal de glucosa. Después de esto siguen varias alteraciones (Fig. II.5.). La insulina estimula la reabsorción renal de sodio y tiene efecto similar al del sistema nervioso simpático, lo cual podría contribuir a un aumento en la presión sanguínea. La insulina puede estimular la liberación de triglicéridos hepáticos, y la resistencia es

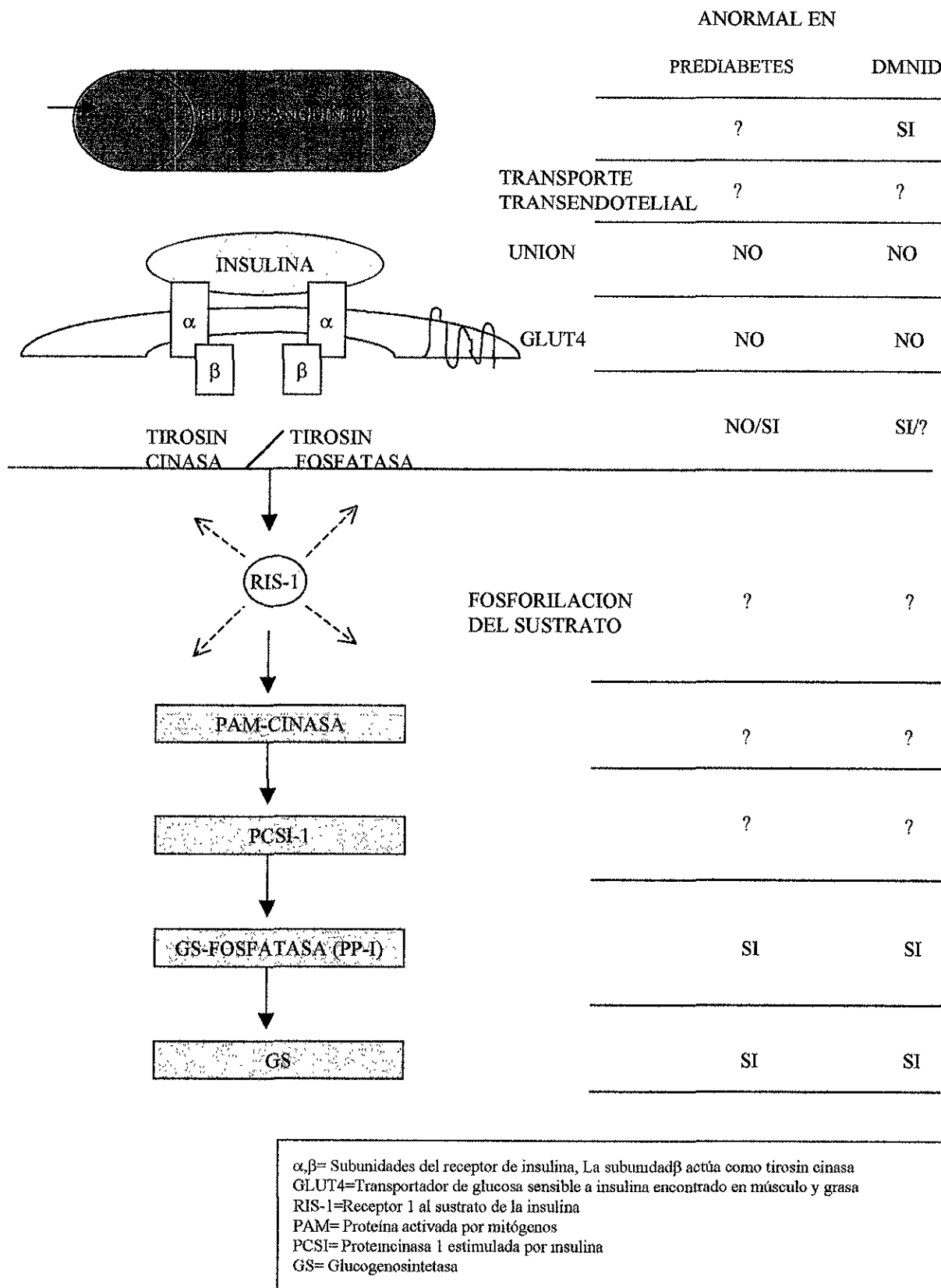


Figura II.4. Anormalidades de la acción de la insulina en el músculo de sujetos prediabéticos

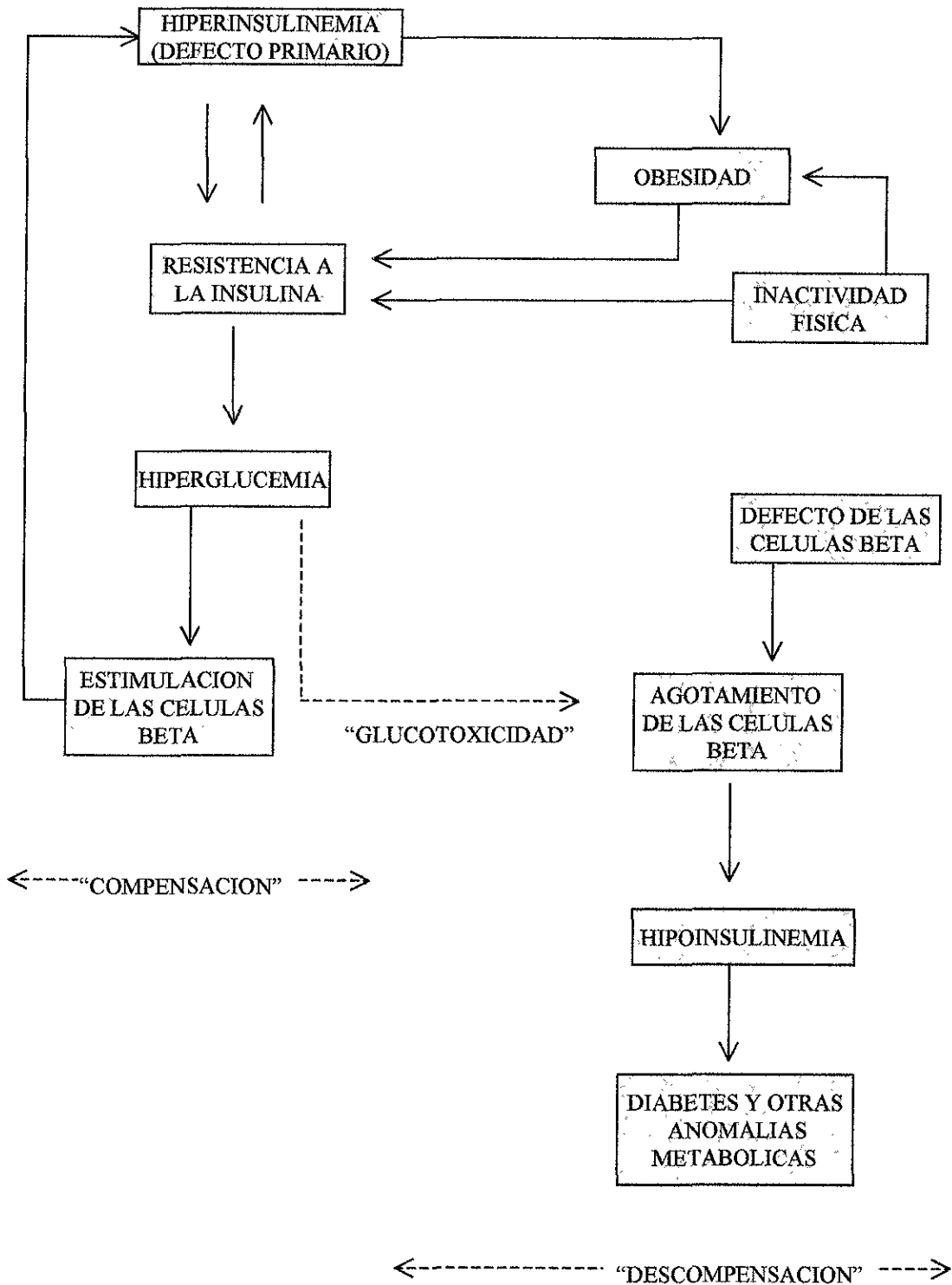


Figura II.5. Modelo para explicar las alteraciones que causa la hiperinsulinemia

asociada con el incremento en el flujo de ácidos grasos no esterificados (AGNE) debido a una reducción en la supresión de lipólisis. Este aumento en la liberación de triglicéridos, conduce a una disminución en la concentración de lipoproteínas de alta densidad (HDL) mediante la proteína transportadora de ésteres de colesterol. La resistencia a los efectos estimulatorios de la insulina sobre la lipasa de lipoproteínas podría también contribuir a la disminución de la HDL. Estas alteraciones en las lipoproteínas tienden a incrementar la concentración de pequeñas lipoproteínas de baja densidad (LDL) aterogénicas. La insulina estimula la síntesis endotelial y hepática del factor antifibrinolítico del Inhibidor del Activador del Plasminógeno-1 (PAI-1) contribuyendo a la aterogenicidad. Además, el aumento en la secreción de insulina asociado con la resistencia a la insulina es acompañada por el incremento en la concentración de proinsulina, lo cual por sí mismo contribuye a la hiperinsulinemia (40). Ver figura II.6. y cuadro II.2.

2.4.1.1. RESISTENCIA A LA INSULINA: FACTOR DE RIESGO.

Es claro que la resistencia a la insulina es un factor de riesgo muy importante para el desarrollo de la *Diabetes mellitus* no insulino dependiente. Sin embargo es relevante mencionar que aunque la DMNID es más común en gente con resistencia a la insulina, la mayoría de la gente con resistencia a la insulina no llega a ser diabética. Por otra parte aquellos que eventualmente llegan a ser diabéticos, pueden haber tenido resistencia a la insulina por muchos años sin tener un incremento importante en su concentración de glucosa en plasma.

Ahora bien, es importante conocer las diferencias fisiológicas entre personas con resistencia a la insulina que llegan a ser diabéticas y aquellas que no, para entender la patofisiología de la DMNID. Para esto, se necesita estudiar la habilidad de la célula beta para producir más insulina que compense la resistencia

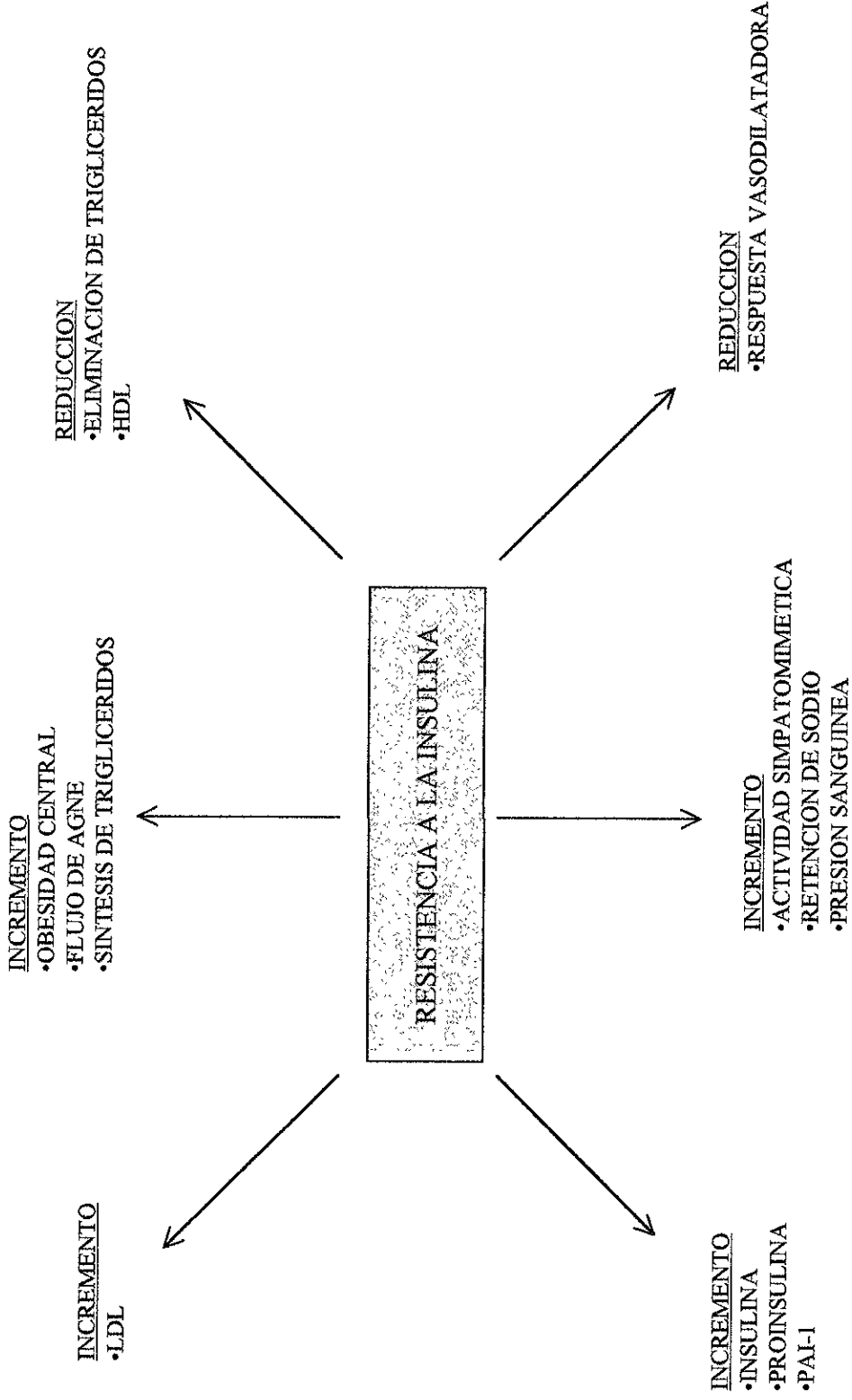


FIGURA II.6. Componentes del síndrome de resistencia a la insulina

a la insulina (25, 40). La hiperinsulinemia es una característica especial de la DMNID y ha sido considerada como un elemento de predicción de la enfermedad. Este aspecto es muy importante ya que existe la posibilidad de que la DMNID pueda prevenirse a través de modificaciones del estilo de vida, incluyendo la dieta. Esto ofrece la posibilidad de identificar a los individuos con mayor riesgo de desarrollar la enfermedad y que deberán ser objeto de estrategias preventivas (43).

CONSECUENCIAS DE LA HIPERINSULINEMIA
1.- Acción antinatriurética.
2.- Aumento de triglicéridos y colesterol.
3.- Aumento de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y de muy baja densidad (VLDL)
4.- Disminución de lipoproteínas de alta densidad (HDL).
5.- Estimulación de los factores de crecimiento tisular.
6.- Aumento de síntesis de colágeno, lo que provoca fibrosis.

Cuadro II.2. Consecuencias de la hiperinsulinemia.

Dado que la disminución de la tolerancia a la glucosa acompañada de hiperinsulinemia puede estar presente de 10 a 20 años antes de que la DMNID sea diagnosticada, la detección precoz de la diabetes potencial representa un particular desafío para los pediatras y para las autoridades de la salud pública responsables de las poblaciones de alto riesgo.

2.4.1.2. FUNCIONAMIENTO DE LA CÉLULA BETA ASOCIADO CON LA RESISTENCIA A LA INSULINA.

El incremento de demanda de insulina inducido por la resistencia a la insulina, en la célula beta es asociado con la pérdida progresiva de la función de la misma. Se han propuesto algunas hipótesis, para explicar por qué la pérdida de la función de la célula beta ocurre en la DMNID.

◇ Glucotoxicidad.

La hiperglucemia causa un detrimento en la secreción de insulina por lo que la pérdida de peso y la terapia con insulina en pacientes con DMNID aumenta la secreción de insulina endógena, aunque la pérdida de peso por si misma no supone una influencia en la secreción de insulina endógena, ya que de cualquier manera podría por alguna causa inhibir agudamente la secreción de insulina endógena. El mejoramiento del control glucémico es el común denominador de ambos sucesos: la pérdida de peso y la terapia con insulina podría explicar el progreso en la función de la célula beta. La ética impide los exámenes para probar las hipótesis de que la hiperglucemia crónica leve empeora la función de las células beta en seres humanos, pero muchos estudios *in vivo* e *in vitro* dan bases a esta idea. Debido a que la hiperglucemia crónica induce la resistencia a la insulina, esto podría por si misma perpetuar el estado diabético e inevitablemente llevar a la pérdida progresiva de la función de la célula beta en el diabético no insulino dependiente (40,46).

◇ Teoría del "gen del ahorro".

Se proponen dos hipótesis con respecto al "gen del ahorro", la primera propone que el gen o los genes diabetogénicos fueron seleccionados a través de

milenios de evolución, para proporcionar a sus portadores alguna ventaja que les permitiera sobrevivir. Esta ventaja puede ser la capacidad para responder con una rápida producción de insulina en tiempos de abundancia, de modo que pudiera ser almacenada más eficientemente la energía procedente de la alimentación y así, permitir a los individuos sobrevivir durante períodos largos e imprevisibles, en los que el aporte de alimento escaseaba. Este rasgo genético parece haber beneficiado a los cazadores recolectores que vivían en regiones semidesérticas (43). Con la desaparición de esta capacidad, la abundancia de los alimentos occidentales y la adopción de un modo de vida moderno en un corto espacio de tiempo, este rasgo ya no reporta ningún beneficio para estos individuos. En su lugar tenemos un estilo de vida sedentaria acompañado por cambios como ganancia de peso e inactividad física, lo cual causa resistencia a la insulina. Un alto nivel de actividad física es inversamente relacionado con la prevalencia de DMNID (46).

La segunda hipótesis se propone porque se piensa que la resistencia a la insulina no es suficiente para inducir las fallas de la célula beta, sino que se piensa que la alteración sólo ocurre en individuos predispuestos y sugiere que la falla de la célula beta es el resultado de una pobre nutrición fetal y temprana post-natal lo que refleja un desarrollo fetal pobre del páncreas, especialmente de las células beta, por lo cual, durante la vida ya no se puede compensar adecuadamente y se produce la resistencia a la insulina (46).

◇ Papel del polipéptido amiloide de los islotes (PPAI).

Recientemente se ha prestado atención al papel potencial que la amilina puede tener en la patogenia de la DMNID. La amilina es un péptido de 37 aminoácidos localizado en los depósitos amiloides extracelulares en casi la mitad de los islotes pancreáticos de los pacientes con DMNID, y es capaz de inhibir *in vitro* la síntesis del glucógeno en el músculo (43). Este péptido es almacenado con

insulina en los gránulos secretores de la célula beta. La amilina se cosegrega con la insulina como respuesta a la ingestión tanto de glucosa como de una comida mixta. La concentración en plasma del PPAI (2-10 pmol/L) es alrededor de la décima parte que la de insulina. La concentración farmacológica del PPAI disminuye al momento de que el músculo toma la glucosa e inhibe la secreción endógena de insulina, la concentración de PPAI en las célula beta es más alta que en el plasma, por lo tanto, la hipersecreción de insulina en individuos susceptibles a la diabetes podría incrementar la concentración local de PPAI lo suficiente para inhibir la secreción de insulina (46), pero de cualquier manera si el PPAI tiene algún significado fisiológico en la homeostasia de la glucosa esto todavía no está claro (40, 46).

◇ Defectos heredados en la secreción de insulina.

El transportador de glucosa GLUT2 y la enzima glucocinasa son responsables del transporte y la fosforilación de glucosa respectivamente en la célula beta. La fosforilación está considerablemente limitada por el metabolismo de glucosa en las células beta y por lo tanto es un importante regulador potencial de la secreción de insulina. Estudios de herencia del gen de glucocinasa muestran relación con la edad en un 55% aproximadamente en pacientes con historial de DMNID de inicio temprano (MODY). MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young) fue definido como diabetes caracterizada por un modo de herencia dominante y de inicio temprano (por lo menos dos miembros se diagnostican con DMNID antes de los 25 años). Aunque hay relación de MODY con algunas genealogías o descendencias blancas, las mutaciones en el gen glucocinasa no explica la pérdida de función de la célula beta en la población en general con DMNID (46).

2.4.1.3. EL PAPEL DE LA FUNCIÓN ANORMAL DE LA CÉLULA BETA EN LA EVOLUCIÓN DE LA DMNID.

Para definir el papel de la célula beta en la patogénesis de la DMNID, es de suma importancia determinar en que momento la función de ésta empieza a ser anormal en la secreción de insulina y cuales son los efectos antes de llegar a tener una hiperglucemia. Para obtener esto, se requieren estudios en sujetos "prediabéticos" en quienes las concentraciones de glucosa en plasma son normales o casi normales (40, 75).

2.4.1.3.1. PERSONAS CON DIABETES FRANCA.

Las anomalías de la secreción de insulina en personas con una diabetes declarada o franca incluyen la reducción o ausencia de la primera fase de respuesta a una dosis intravenosa de glucosa, un retraso y brusca respuesta secretoria ante la ingestión de una comida mixta, alteraciones en los pulsos rápidos y oscilaciones ultradiarias de secreción de insulina, y un incremento en el plasma de la concentración de péptidos relacionados con la insulina. La elevación de glucosa por sí misma contribuye a por lo menos algunos de estos defectos, los cuales mejoran cuando la hiperglucemia es tratada. En la gente con diabetes franca, no es posible distinguir los defectos en la secreción de insulina que están envueltos patogenéticamente en el desarrollo de la diabetes, de aquellos que son secundarios a la hiperglucemia. Este problema puede ser investigado solamente en personas prediabéticas en quienes las concentraciones de glucosa en plasma son normales o casi normales.

2.4.1.3.2. PERSONAS CON TOLERANCIA ALTERADA A LA GLUCOSA.

Aunque ha sido sugerido que la función de la célula beta es normal en personas con tolerancia alterada a la glucosa, datos recientes sugieren que esto no es así, incluso en personas con concentraciones normales de glucosa en plasma en ayuno y de hemoglobina glicosilada tienen valores más altos de 140 mg/dL (7.8 mmol/L) 2 horas después de la ingestión de una carga de 75 g de glucosa y son asociadas con la secreción anormal de insulina. Los defectos en la secreción incluyen reducción temprana de secreción de insulina en respuesta a la glucosa oral; reducción de la capacidad de la célula beta para compensar el grado de resistencia a la insulina, esto evidenciado por la reducción de la primera fase de la respuesta secretoria de insulina en relación al grado de resistencia a la insulina; disminución en la sensibilidad de la célula beta a la glucosa, esto se manifiesta por la reducción en la habilidad para detectar y responder a las sucesivas elevaciones y reducciones de glucosa durante una infusión oscilatoria de glucosa; los cambios en las curvas dosis-respuesta que relacionan glucosa y secreción de insulina, indican una insensibilidad progresiva de la célula beta a la glucosa, así como una disminución de la tolerancia a la glucosa de normal a alterada y finalmente la elevan al nivel de diabetes declarada; y alteraciones en las oscilaciones rápidas de secreción de insulina. Todos estos defectos involucran la sensibilidad a glucosa y los patrones estímulo-respuesta en la célula beta. Además, datos recientes sugieren que la respuesta secretoria de insulina a estímulos que no son de glucosa puede también ser anormal en personas con tolerancia a la glucosa alterada (75).

2.4.1.3.3. PERSONAS CON CONCENTRACIONES NORMALES DE GLUCOSA EN PLASMA.

Los familiares de primera generación de pacientes con DMNID están en mayor riesgo para esta condición que la población en general, pero los familiares con respuestas normales de glucosa en plasma con una carga de glucosa de 75 g de glucosa oral (es decir, que deben tener valores de glucosa de 140 mg/dL o menos en 2 horas después de la carga de glucosa) tienen un sustancial bajo riesgo de diabetes que los parientes con valores más altos. Además la secreción de insulina en familiares de primera generación con DMNID es anormal si los valores de glucosa 2 horas después de dar la carga de glucosa están por arriba de 140 mg/dL, pero normal si los valores de glucosa son de 140 mg/dL o menos. Desafortunadamente, no ha sido posible determinar si estos familiares tienen una secreción de insulina normal por que tienen un menor riesgo de diabetes, por que las anomalías secretorias de la insulina no se han desarrollado todavía o por que los métodos usados para probar la función de la célula beta son también insensibles para detectar defectos sutiles en la secreción de insulina. Un reporte reciente indica que la respuesta secretoria de insulina a glucosa en familiares de primera generación de personas con DMNID puede estar reducida cuantitativamente pero normal cualitativamente. La importancia de estos hallazgos no es clara, hasta que la diabetes no se ha desarrollado en una proporción importante en estas personas.

Los puntos anteriores pudieran ser resueltos si fuera posible estudiar la susceptibilidad de la gente cuando sus concentraciones de glucosa en plasma fueran completamente normales (71).

2.4.2. GENÉTICA.

Los patrones genéticos del inicio tardío de la DMNID son complejos, lo que sugiere que tanto los factores genéticos como los no genéticos están relacionados. Al parecer los genes afectan la secreción y acción de la insulina actuando en conjunto con factores no genéticos, tales como la dieta y el nivel de actividad física, para causar la hiperglucemia de la DMNID. Esta complejidad ha obstaculizado la identificación del locus susceptible a DMNID por las técnicas que han sido exitosas en desordenes debido a mutaciones en un solo gen, como en la fibrosis quística. Sin embargo, los estudios familiares están empezando a proporcionar importantes pistas de la patofisiología de la DMNID. Estos estudios han dado los indicios para la identificación de mutaciones en 3 genes que son los responsables del MODY (subtipo de la DMNID).

MODY tiene un patrón simple de herencia autosómica dominante que aparece como resultado primario de alteraciones en la función de la célula beta. Estas observaciones implican que los efectos de los genes del MODY sobre la función de la célula beta son más profundos que los de los otros genes o factores ambientales que tienen solamente un pequeño papel en la DMNID, ya que posiblemente solo determinan la edad a la cual se está predispuesto para la aparición de la hiperglucemia. Los estudios genéticos han logrado encontrar una relación entre los genes que causan el inicio tardío de la DMNID y cualquiera de los genes que causan el MODY. Se sugiere que los genes responsables para el inicio tardío de la DMNID son menos importantes en la regulación de la secreción de insulina que los genes que causan el MODY y solamente manifiestan sus efectos en la presencia de resistencia a la insulina o factores ambientales (por ejemplo dieta alta en grasas y estilo de vida sedentario), además estos genes pueden no necesariamente ser suficientes para causar la diabetes.

Dada la herencia de los marcadores en el ADN que están fuertemente unidos a los genes de la enfermedad, ha sido posible identificar y estudiar sujetos con MODY que tienen herencia del gen mutado antes de aparecer la hiperglucemia. Por que los sujetos tienen concentraciones de glucosa plasmática normales, los resultados no fueron influenciados por los efectos de hiperglucemia sobre sensibilidad a la insulina y la función de la célula beta (71). Estudios similares en la DMNID de inicio tardío son probablemente igual de importantes en la determinación de los parientes con resistencia a la insulina y disfunción en la célula beta en estas condiciones. En la diabetes juvenil de inicio en la madurez, descrita anteriormente, la herencia es autosómica dominante y ligada a los cromosomas 7 y 20. Se ha descubierto que el defecto del cromosoma 7 consiste en mutaciones del gen que codifica una enzima que fosforila la glucosa, la glucocinasa. También se ha observado en un subgrupo de pacientes con DMNID, una asociación entre los alelos polimórficos del gen de la glucogeno sintetasa.

2.5. COMPLICACIONES AGUDAS DE LA DIABETES MELLITUS.

Las complicaciones agudas (61), se presentan generalmente en pacientes con DMID y se asocian a la insuficiencia de insulina (cetoacidosis o coma diabético) o a su exceso (hipoglucemias).

2.5.1. CETOACIDOSIS.

Debido a la deficiencia de insulina, disminuye la captación de glucosa en las células dependientes de ella, lo que provoca un incremento en :

- a) Gluconeogénesis
- b) Glucogenólisis
- c) Proteolisis
- d) Lipolisis

Esta disminución en la captación de glucosa produce elevación en los niveles de glucemia. La glucosa es filtrada y reabsorbida en el riñón cuando la glucemia sobrepasa el valor de 180 mg/dL, los transportadores de glucosa responsables de la reabsorción de la misma se saturan y empieza a eliminarse glucosa en la orina. En consecuencia se produce diuresis osmótica, ésta a su vez provoca pérdida de agua y electrolitos, deshidratación, hipovolemia, así la disminución en el aprovechamiento de glucosa desencadena la polifagia e incrementa la poliuria y polidipsia.

La gluconeogénesis contribuye al incremento de glucosa en sangre. La proteolisis libera aminoácidos incrementando la gluconeogénesis y aumentando aún más la glucosa en sangre. La lipolisis causa una degradación de los triglicéridos a glicerol y ácidos grasos, estos ácidos grasos por betaoxidación liberan acetil coenzima A (CoA), dos moléculas de acetil CoA se condensan para formar ácido aceto acético; la oxidación del grupo ceto al grupo hidroxilo forma el ácido beta hidroxibutírico y la descarboxilación del ácido acetil acético forman acetona, estos son los tres cuerpos cetónicos que dan lugar a la cetonemia y en consecuencia a la acidosis metabólica. La acidosis metabólica conduce a una hiperpotasemia y es compensada por alcalosis respiratoria. En resumen esta deficiencia de insulina es la responsable de la hiperglucemia, diuresis osmótica, poliuria, polidipsia, enuresis, polifagia y pérdida de peso. Con un déficit agudo de insulina estas "regulaciones" carenciales alcanzan un nivel amenazador en un plazo muy corto, llegando al coma diabético (27). Los defectos de la regulación que conducen al coma diabético, están resumidos esquemáticamente en la figura II.7.

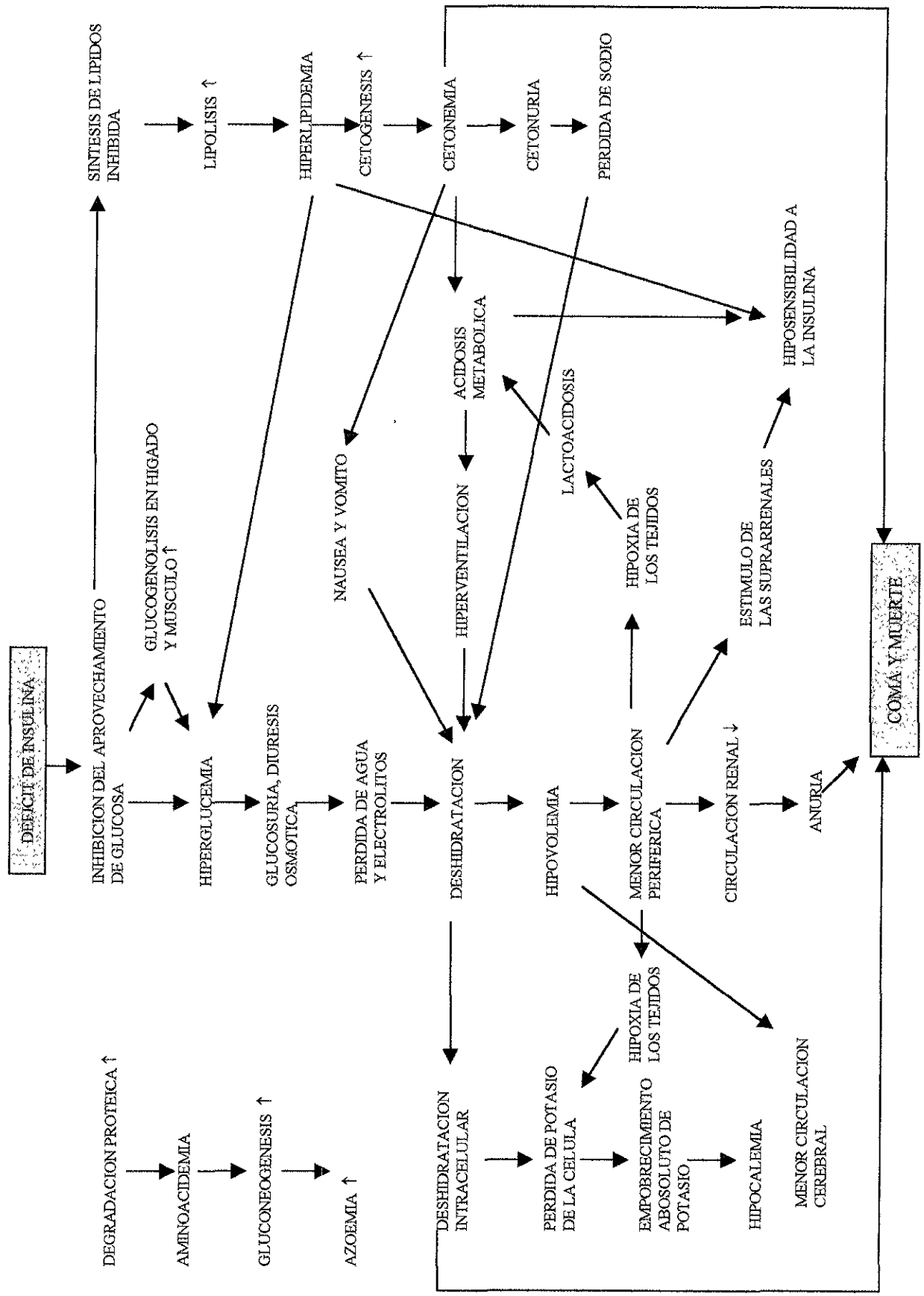


Figura II.7. Mecanismo de origen del coma diabético

2.5.1.1. TRATAMIENTO DE LA CETOACIDOSIS DIABÉTICA.

El tratamiento se basa en la administración de una insulina de acción rápida y en la adecuada corrección del desequilibrio electrolítico (Cuadro II.3).

La perfusión intravenosa de la insulina de acción rápida es preferible a su administración por vía subcutánea o intramuscular, que puede dar valores plasmáticos impredecibles, dado que la velocidad de absorción periférica viene condicionada por el grado de deshidratación del paciente (27). Es preciso rehidratar al paciente recordando que en general, la deshidratación causa la mitad de pérdida del espacio extracelular, que debe ser reconstituido rápidamente, y otra mitad del compartimento celular cuya corrección debe hacerse más lentamente, y al mismo tiempo corregir las pérdidas electrolíticas intracelulares. Es importante mencionar que un aporte excesivo de agua pura puede originar un edema cerebral secundario (60). La cetoacidosis causa una caída de la reserva alcalina, por lo que si el pH extracelular es inferior a 7.2, es necesario administrar un poco de bicarbonato sódico isotónico para compensar la incapacidad momentánea del riñón de llevar la reserva alcalina del medio interior y permitir la reducción de hiperpnea. El coma diabético produce una pérdida de sodio y potasio, por lo que debe administrarse estos electrolitos, a pesar de que el potasio plasmático sea elevado, ya que esto sólo indica su paso desde las células hacia su eliminación renal o digestiva. Con respecto al sodio su pérdida se realiza una parte hacia el exterior (orina y vómitos) siendo preciso compensarla y otra parte hacia el interior de las células, donde se recuperará tras la administración del potasio necesario (60).

PERFUSIÓN INTRAVENOSA DE INSULINA ACCIÓN RÁPIDA
- Bolo: 0.1 U/kg. - Infusión: 0.1 U/Kg./ h. - En caso de infección: 0.2 U/Kg./h.
REHIDRATACIÓN
- Hora 1: 0.9 % solución salina, 10 mL/Kg. - Horas 2-8: 0.45% solución salina, 50 mL/Kg. y solución glucosada al 5% si la glicemia es mayor a 250 mg/dL. - Horas 9-24: solución glucosada al 5 %, 60 mL/Kg. y potasio: 30-40 mmol/L
ALCALINIZACIÓN
- Bicarbonato 1.2 mmol/Kg. si el pH es mayor a 7.01.

Cuadro II.3. Esquema terapéutico en la cetoacidosis diabética.

2.5.2. HIPOGLUCEMIA DIABÉTICA.

En los seres humanos normales, la glucemia se regula en forma estricta y la concentración por lo general se mantiene entre 60 y 120 mg/dL en todo un período de 24 horas. La hipoglucemia se define en forma arbitraria como la glucemia posprandial o en ayunas por debajo de 50 mg/dL, aunque un 10 % de los sujetos normales asintomáticos pueden ingresar en esta categoría. Las manifestaciones se deben a la liberación aumentada de catecolaminas o neuroglucopenia.

Normalmente el cerebro humano consume, tanto de noche como de día, alrededor de 5 g de glucosa/h. El aporte de glucosa a las células cerebrales es suministrado por una circulación sanguínea del orden de 1 L/min. Las células

cerebrales tomarán la glucosa directamente de esta aportación. Con 1 g/L en la sangre la cantidad de glucosa suministrada es óptima. Si la glucemia se eleva, el cerebro no toma más que la glucosa necesaria, aunque eventualmente reconstituye sus reservas de glucógeno. Por el contrario, cuando la glucemia baja por debajo de 0.5 g/L, este suministro resulta insuficiente. Al no tener prácticamente ninguna reserva de glucógeno (alrededor de 1.5 g) y no pudiendo utilizar habitualmente más que la glucosa (en la cetoacidosis se produce una adaptación de la utilización de cuerpos cetónicos, pero en una situación normal solamente consume glucosa), los diez millones de células cerebrales quedarán alteradas de modo reversible, pero irreversiblemente si la situación se prolonga. Sin embargo, la situación será habitual y automáticamente corregida gracias a un sistema regulador que vigila el mantenimiento de esta glucemia, al mismo tiempo que el flujo cerebral aumenta ligeramente. Un centro regulador situado en el hipotálamo vigila el mantenimiento de esta glucemia a modo de un termostato que es capaz de regular la temperatura de una casa. Cuando la glucemia empieza a bajar y aparece una amenaza para las células cerebrales, el centro hipotalámico desencadena un sistema de contrarregulación. Cuando la glucemia desciende mucho, parten de este centro regulador, informaciones (factores reguladores) que van a actuar en tres lugares:

- 1) Sobre los centros de apetito creando una necesidad de glúcidos que, si se satisface, puede compensar el trastorno;
- 2) Sobre el sistema reticular bulbar, condicionando la activación del sistema simpático y parasimpático y provocando la secreción del glucagon y la adrenalina; y
- 3) Sobre la hipófisis, liberando diferentes hormonas, especialmente la hormona del crecimiento.

Este conjunto causa la liberación de substratos que permitirán fabricar glucosa y remontar la glucemia en un hígado activado por la cortisona y el

glucagon. Así, la hipoglucemia desencadena una contrarregulación, a la vez nerviosa y hormonal, que tiene por efecto restablecer la situación e incluso llegar, en un segundo tiempo, si todo este conjunto está fuertemente solicitado, a un rebote hiperglucémico (fenómeno de Somogy). Habitualmente el sistema es tan elástico y preciso que, a lo largo de la vida, algunos sujetos nunca presentan la menor perturbación por este motivo.

Ya se comentó que las reservas cerebrales son muy reducidas. El poco glucógeno que se tiene como reserva apenas permite mantener la vida durante 20 minutos con una glucemia a cero. Si la glucosa continúa faltando, se pierde el suministro de energía intracelular y no hay más ATP disponible. El efecto local es una inflamación celular con edema cerebral.

Si esta situación se prolonga, las perturbaciones no serán únicamente funcionales sino que llegarán a hacerse orgánicas y se observa la destrucción de cierto número de estas células, que puede desencadenar la muerte si no es corregida.

2.5.2.1. TRATAMIENTO DE LA HIPOGLUCEMIA DIABÉTICA.

Ante cualquier manifestación de hipoglucemia, es necesario administrar azúcar bajo cualquier forma: terrones de azúcar, zumo de fruta muy azucarado, pan con miel e incluso jàrabes de azúcares. Si la conciencia disminuye se debe administrar cucharadas de jàrabe de azúcar, si la pérdida de conocimiento se prolonga o si es imposible hacer absorber cualquier forma de azúcar antes mencionado, se debe inyectar una ampolleta de 1 mg de glucagon por vía intramuscular. Si aún así la vuelta al estado de conciencia no es muy rápida, el médico debe administrar inmediatamente por vía intravenosa suero glucosado

hipertónico al 30%. Si a pesar de esto no se obtiene un alto grado de conciencia, entonces será preciso instalar una perfusión de suero glucosado intravenosa a razón de 10 g/100 mL, debe pasar alrededor de 10 mL/Kg. durante la primera hora, reducir progresivamente la cantidad en las siguientes, y controlar así mismo las glucemias.

Si es preciso mantener una perfusión prolongada no sólo debe administrarse soluciones con glucosa sino también cloruro sódico 2g/L y cloruro potásico 1.55 g/L hasta la vuelta de la conciencia y controlar las glucemias. Si en esas condiciones la glucemia no puede ser mantenida en una cifra satisfactoria, debe ser preciso aumentar la cantidad de glucosa, añadir eventualmente hidrocortisona a razón de 2 mg/Kg cada 3 horas e incluso inyecciones de manitol al 20% en perfusión intravenosa, aunque esto debe hacerse, en un servicio de reanimación (61).

2.5.3. COMA HIPEROSMOLAR NO CETÓNICO.

El coma hiperosmolar no cetónico se encuentra sobre todo en pacientes de edad avanzada con sólo una leve hiperglucemia.

Los síntomas se asemejan al coma cetónico, pero se distinguen por 3 hallazgos. En el coma hiperosmolar está elevada la mayoría de las veces la natremia, no se halla ninguna cetoacidosis, correspondiente a esto, son normales la reserva alcalina y el pH sanguíneos. Los demás síntomas son igualmente marcados que en el coma acidótico. Las glucemias están elevadas la mayor parte de las veces a 1 000 mg/dL. Con esto se comprende el aumento de la osmolalidad plasmática como consecuencia de la diuresis osmótica, la deshidratación celular y el descenso del volumen sanguíneo circulante.

Los hallazgos de laboratorio en el coma son (2):

- ◇ Glucosa sanguínea mayor a 600 mg/dL.
- ◇ Ausencia o ligera elevación de acetona en el plasma.
- ◇ Urea elevada, creatinina elevada.
- ◇ Electrolitos normales o ligeramente elevados.
- ◇ Osmolalidad elevada.
- ◇ pH normal o ligeramente por debajo de lo normal.

2.6. COMPLICACIONES CRÓNICAS DE LA DIABETES MELLITUS.

Las complicaciones tardías de la diabetes mellitus se presentan tanto en el tipo I como en el tipo II. Con bastante uniformidad, se distinguen dos grandes grupos de alteraciones vasculares en los diabéticos: la macroangiopatía y la microangiopatía. Las complicaciones macrovasculares afectan a los grandes vasos, reduciendo su flujo sanguíneo. Su manifestación clínica es la estenosis u oclusión de las arterias coronarias, cerebrales o periféricas. Las complicaciones microvasculares lesionan vasos sanguíneos de pequeño calibre como capilares y arteriolas precapilares, y se caracterizan por alteraciones de la permeabilidad y engrosamiento de las membranas basales y espacios perivasculares. Las lesiones se presentan en los siguientes sistemas orgánicos:

- a) Corazón
- b) Ojos (retinopatía).
- c) Riñones (nefropatía).
- d) Nervios (neuropatía).

2.6.1. MECANISMOS DE PATOGENICIDAD.

Para el desarrollo de las complicaciones micro y macrovasculares la influencia principal está dada por la predisposición genética y los factores metabólicos. Los mecanismos patofisiológicos por los cuales la hiperglucemia lleva a cabo daño irreversible de los tejidos incluyen: la glucosilación no enzimática de las proteínas; la activación de la vía de los polioles; el metabolismo de mioinositol y fosfatidilinositol, hipoxia tisular y oxidantes por estrés (83).

2.6.1.1. GLUCOSILACIÓN NO ENZIMÁTICA DE PROTEÍNAS.

La principal consecuencia de la hiperglucemia es la excesiva glucosilación no enzimática de proteínas.

La glucosilación no enzimática empieza en todos los casos con la unión de glucosa a los grupos amino de las proteínas vía adición nucleofílica con la consecuente formación de la base de Schiff.

2.6.1.1.1. TIPOS DE GLUCOSILACIÓN NO ENZIMÁTICA DE PROTEÍNAS.

2.6.1.1.1.1. Proteínas con vida media de días a semanas.

Una vez que se forma la base de Schiff rápidamente alcanza un nivel de equilibrio *in vivo* que refleja la concentración de glucosa. Después de algunas semanas, ocurre un lento rearreglo químico de la base de Schiff, lo cual resulta en

la acumulación de un producto estable pero químicamente reversible de azúcar-proteína, llamado producto de Amadori. La acumulación de los productos de Amadori no continúa indefinidamente, ya que después estos productos sufren otra serie de rearrreglos formando entonces productos irreversibles llamados productos finales de glucosilación avanzada (AGE), que se acumulan indefinidamente sobre las proteínas de larga vida (14,15,16,51), todo este proceso se observa en la figura II.8. En la figura II.9. se muestran algunos mecanismos por los cuales los AGE causan cambios patológicos en la diabetes

Así las proteínas de vida media corta sólo acumulan el producto de Amadori, ya que su tiempo de recambio en el organismo es igual o menor al tiempo requerido para que la base de Schiff alcance el equilibrio (14).

2.6.1.1.1.2. Proteínas estructurales de tiempo de vida media largo.

En contraste con las proteínas de recambio en las cuales el tiempo de vida medio es igual o menor al tiempo necesario para alcanzar el equilibrio de los productos de Amadori, las proteínas de larga vida como proteínas del cristalino, colágeno, elastina y mielina, acumulan los productos finales de glucosilación avanzada. Estos AGE se forman muy lentamente a través de nuevas reacciones, rearrreglos y deshidrataciones. Los productos finales de glucosilación avanzada son identificados cualitativamente por su característico pigmento café, fluorescencia y por su participación en el entrecruzamiento proteína-proteína (14).

La glucosilación no enzimática ha sido observada tanto *in vitro* como *in vivo* en muchas proteínas relevantes biológicamente, que se muestran en el cuadro II.4.

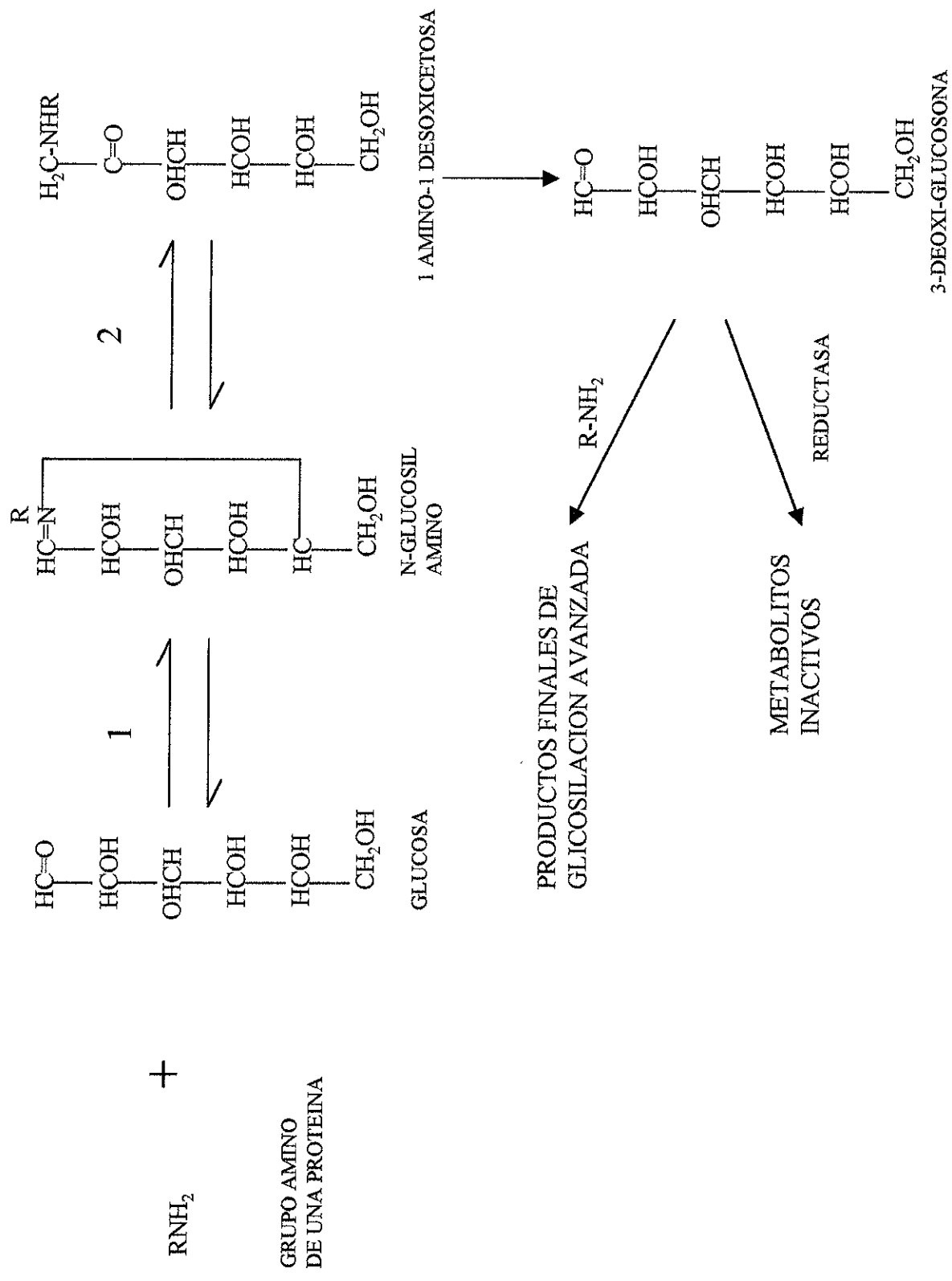


Figura II.8. Formación de los AGE a partir de glucosa.

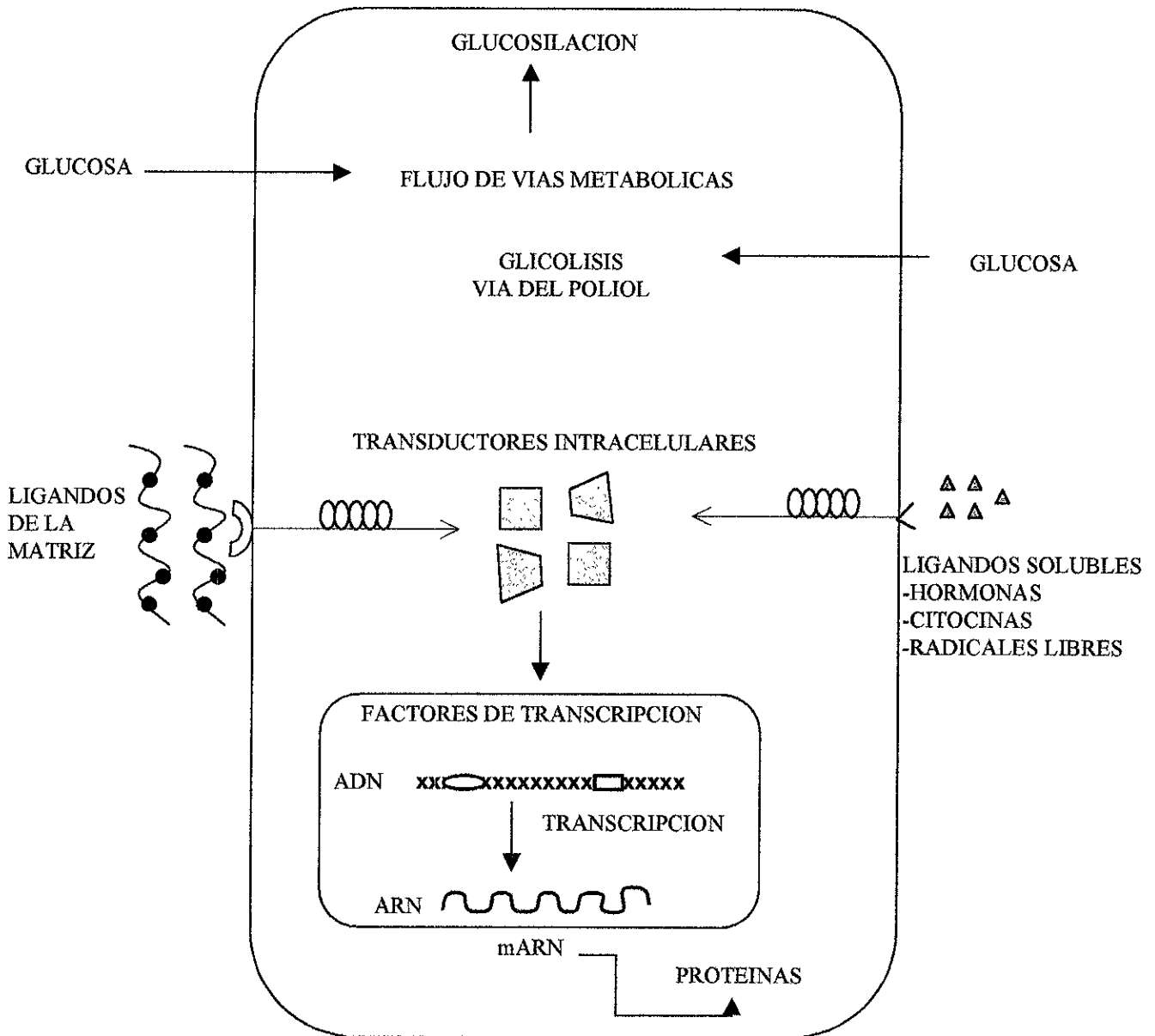


Figura II.9. Célula esquemática que muestra tres mecanismos generales por los cuales los AGE pueden causar cambios patológicos en la diabetes.

La glucosilación no enzimática se ha demostrado primero en el cristalino, ya que sus proteínas persisten por toda la vida. Se han encontrado dos tipos de uniones, unas que pigmentan a las proteínas por aumento de la vulnerabilidad de éstas a la oxidación y lo que provoca la opacidad del lente ocular. El otro tipo de unión puede ser por la glucosilación o por puentes disulfuro entre los grupos sulfhidrilo (SH) y los grupos del aminoácido cisteína.

El residuo fructosa-lisina del inicial rearrreglo de Amadori de la glucosilación no enzimática proteica se incrementa formando uniones cruzadas en las proteínas de tiempo de vida media largo, por degradación oxidativa del carboxi-metil-lisina inerte. El daño por la unión y oxidación se han implicado en la patogénesis de la catarata diabética. Las uniones son la base de la fluorescencia de las proteínas de el lente envejecido. En el lente normal los residuos fructosa-lisina permanecen constantes con la edad, mientras que los de carboxi-metil-lisina se incrementan linealmente.

Las proteínas plasmáticas también son glucosiladas por lo que son una alternativa de la hemoglobina glucosilada en las mediciones para el control de la glucemia. La circunstancias del almacenamiento y la vida de la albúmina (2 semanas) nos indican que es mejor la albúmina glucosilada que la hemoglobina glucosilada para el control a corto plazo.

El acelerado "envejecimiento" del colágeno ha sido documentado en personas diabéticas y éste se ha relacionado con la rápida glucosilación del colágeno. Lo que parece ser un proceso normal de envejecimiento, se acentúa en el individuo con hiperglucemia. El colágeno glucosilado es menos soluble y menos susceptible a la digestión proteolítica que el colágeno no glucosilado. Esto sugiere que la formación de la reacción cruzada puede ocurrir como resultado de las excesivas reacciones no enzimáticas del residuo de lisina e hidroxilisina en el colágeno (39).

PROTEÍNA	FUNCIÓN FISIOLÓGICA
Hemoglobina	Intercambio de oxígeno
Membrana del eritrocito	Deformabilidad en la microvasculatura
Antitrombina III	Inhibición de la coagulación excesiva
Fibrinógeno	Formación del coágulo y viscosidad del plasma
Fibrina	Mantenimiento del coágulo
Membrana de la célula endotelial	Mantenimiento de la integridad vascular
Lente del cristalino	Transmisión de la luz a la retina
Cápsula del lente	Enfoque de la luz sobre la retina
Mielina	Conducción del impulso nervioso
Tubulina	Transporte axonal
Membrana basal Glomerular	Barrera de filtración renal
Colágeno	Propiedades de tejido estructural y cicatrización
Proteínas de la arteria coronaria	Integridad basal para la perfusión del miocardio
Proteínas de baja densidad (LDL)	Transporte de lípidos y metabolismo
Proteínas de alta densidad (HDL)	Transporte de lípidos y metabolismo
Albúmina	Regulación osmótica; transporte de metabolitos
Catepsina B	Degradación de proteínas intracelulares
RNAse pancreática	Hidrólisis de RNA
Ferritina	Almacenamiento de hierro.

Cuadro II.4. Proteínas que sufren glucosilación no enzimática.

Al separar el colágeno de la duramadre de individuos ancianos y de diabéticos, se encontró un pigmento café-amarillo que fluoresce y tiene propiedades espectrofotométricas similares a la de los productos finales de glucosilación avanzada.

2.6.1.1.2. FACTORES QUE DETERMINAN LA CANTIDAD DE GLUCOSILACIÓN NO ENZIMÁTICA.

La cantidad de glucosilación no enzimática en una proteína está determinada por la suma de efectos de un número de variables de acción independiente que se muestran en el cuadro II.5. Las primeras cuatro variables son fijas y constantes en sistemas vivos. *In vitro*, el pH tiene profunda influencia, ya que por abajo de 7.0 no se ha visto la formación de los productos de Amadori y en el rango de pH de 7.0 a 9.0 se incrementa la formación del producto de Amadori hasta el equilibrio. Un aumento en la temperatura produce una aceleración en la velocidad de formación del producto de Amadori. También *in vitro* un aumento en la concentración de una proteína específica y por lo tanto de grupos amino tiene un efecto directo sobre la reactividad con la glucosa, esto explica las diferencias en susceptibilidad a la glucosilación no enzimática observada en diferentes proteínas encontradas en diferente concentración (16).

La concentración de glucosa y el tiempo de incubación son las dos variables que más afectan la magnitud de la glucosilación no enzimática, ya que estas dos variables también difieren *in vivo* como duración de la hiperglucemia y el tiempo de vida media de la proteína. El incremento de la concentración de glucosa causa un aumento en el nivel de acumulación del producto de Amadori sobre las proteínas. Sin embargo la velocidad de formación de los AGE no tiene una dependencia lineal con la concentración de glucosa (16). El período de tiempo de incubación también es crítico ya que los productos de Amadori se acumulan en

función del tiempo y esta acumulación tanto de la base de Schiff como del producto de Amadori puede ser suficiente para alterar significativamente las propiedades funcionales de algunas proteínas de tiempo de vida media corto que tienen funciones importantes o críticas; además de esto, sabemos que los productos de Amadori no se acumulan indefinidamente sino que pasan a formar los productos finales de glucosilación avanzada y estos se acumulan por toda la vida de las proteínas de tiempo de vida media largo (14).

<i>In vitro</i>	<i>In vivo</i>
pH	Constante
Temperatura	Constante
Concentración de proteína	Constante
Microambiente de grupos NH ₂	Constante
Concentración de glucosa	Proporcional al nivel de glucosa sanguínea
Tiempo de incubación	Duración de la hiperglucemia y el tiempo de vida media de la proteína.

Cuadro II.5. Variables *in vitro* que determinan la magnitud de la glucosilación no enzimática y su contraparte *in vivo*.

2.6.1.1.3. PROCESOS FISIOLÓGICOS QUE SE ALTERAN POR LA GLUCOSILACIÓN NO ENZIMÁTICA.

Como puede observarse en el cuadro II.4. la glucosilación no enzimática ocurre sobre muchos tipos de proteínas. Las consecuencias funcionales de la excesiva glucosilación no enzimática de las proteínas se muestran en el cuadro II.6, mientras que en la figura II.8. se muestran tres mecanismos generales por los cuales los AGE pueden causar cambios patológicos en la diabetes (16).

◆ Actividad enzimática
◆ Unión de moléculas reguladoras
◆ Entrecruzamiento de proteínas
◆ Susceptibilidad a proteólisis
◆ Función de ácidos nucleicos
◆ Reconocimiento macromolecular y endocitosis
◆ Inmunogenicidad

Cuadro II.6. Procesos fisiológicos alterados por glucosilación no enzimática.

2.6.1.1.3.1. Actividad enzimática.

La glucosilación no enzimática podría no ocurrir en la mayoría de las enzimas, ya que la mayoría de estas proteínas tienen un tiempo de vida media relativamente corto. No obstante, los compuestos reversibles de base de Schiff se forman rápidamente bajo condiciones fisiológicas y un incremento en la concentración de estos compuestos *in vivo* pueden alterar significativamente las propiedades catalíticas de ciertos tipos de enzimas.

El mecanismo más probable de inactivación podría envolver el ataque de glucosa a un grupo épsilon-amino de lisina esencial para una función normal del sitio activo de la enzima. Por ejemplo, en la ribonucleasa A, la pérdida de un solo grupo de lisina en la posición 41 causa la pérdida total de la actividad enzimática. Pueden verse resultados similares en algunas descarboxilasas y aldolasas, por que sus mecanismos de acción requieren la formación de intermediarios que envuelven grupos amino con sitios activos de lisina no sustituidos. Otro ejemplo de esto es la

catepsina B, cuya actividad es completamente suprimida después de la incubación por dos semanas con una concentración de glucosa de 300 mg/dL (14).

2.6.1.1.3.2. Alteración de la unión de moléculas reguladoras.

Los niveles de metabolitos *in vivo* se mantienen estables por una modulación constante de la actividad de las proteínas funcionales. Un mecanismo general por el cual se lleva a cabo este proceso implica la interacción reversible con metabolitos o cofactores que no están involucrados en la reacción primaria. En casos donde la unión de moléculas reguladoras requiere grupos no sustituidos N-terminal o epsilon-amino lisina, la glucosilación no enzimática es propuesta como inhibidor de la unión de la molécula y afecta su función efectora (14,15,17).

Un modelo bien estudiado de esto, es la unión reversible del 2,3-difosfoglicerato a la hemoglobina. La unión del 2,3-difosfoglicerato a la hemoglobina, estabiliza la forma desoxi de la hemoglobina y disminuye la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno; contrariamente los cambios estructurales de la hemoglobina inducidos por la unión del oxígeno reducen la afinidad de la hemoglobina por el 2,3-difosfoglicerato y el oxígeno sirve de control sensitivo de intercambio de oxígeno (14,15).

Ahora bien, la glucosilación no enzimática de las diferentes fracciones de la hemoglobina (Hb) afectan notablemente sus propiedades funcionales (ver sección 3.5.2.). Comparadas con la Hb A₀, la Hb A_{1a1} y la Hb A_{1a2} tienen bajas afinidades por el oxígeno; la Hb A_{1ab} tiene alta afinidad y la Hb A_{1c} tiene una afinidad moderadamente alta (14,15).

Otra proteína cuya actividad reguladora es modificada por la glucosilación no enzimática es la antitrombina III. Este factor después de la unión con cantidades

catalíticas de la heparina inhibe la actividad de los factores de coagulación con actividad serin proteasa en plasma, en consecuencia la actividad de la trombina no se ve afectada, provocando que el fibrinógeno continúe transformándose a fibrina produciendo una acumulación anormal de esta proteína en algunos tejidos del paciente diabético. La unión de heparina a la antitrombina III se lleva a cabo a través de grupos amino de la lisina, por lo que la glucosilación no enzimática *in vivo* induce defectos en esta unión.(14).

2.6.1.1.3.3. Entrecruzamiento de proteínas.

La habilidad de la hiperglucemia al agregar y entrecruzar proteínas bajo condiciones fisiológicas *in vitro* e *in vivo* fue observada utilizando proteínas del cristalino. La incubación de proteínas del lente con glucosa o glucosa-6-fosfato provoca opacificación de soluciones claras de proteínas así como un incremento de la glucosilación no enzimática de grupos épsilon-amino de la lisina. Las proteínas del lente examinadas después de un largo tiempo de incubación bajo condiciones fisiológicas muestran la presencia de entrecruzamiento que no ocurren en condiciones normales.

La extensa formación de entrecruzamientos de las proteínas derivados de la glucosilación puede contribuir a defectos reversibles en el transporte axonal, lo cual se ha observado en la neuropatía diabética experimental. Estos entrecruzamientos también se forman cuando grupos reactivos generados por proteínas estructurales de tiempo de vida media largo glucosiladas no enzimáticamente atrapan proteínas solubles no glucosiladas. Experimentalmente la adición de seroalbúmina o IgG al colágeno glucosilado no enzimáticamente resulta en unión de ambas proteínas al colágeno. Además la albúmina y la IgG anti albúmina sérica bovina, unidas al colágeno glucosilado no enzimáticamente tienen habilidad para formar complejos inmunes *in situ* con el correspondiente anticuerpo y antígeno libre. Esta

observación provee una explicación bioquímica para la intensa tinción inmunofluorescente que se observa en la membrana extravascular de los pacientes diabéticos. La acumulación persistente de proteínas circulantes como la seroalbúmina puede contribuir al característico engrosamiento de las membranas basales diabéticas y el atrapamiento de la IgG puede ser responsable de la activación del complemento, que ataca la membrana por la acumulación del complejo que ocurre en los riñones de los pacientes diabéticos (14,15,16).

El aislamiento del producto de entrecruzamiento tienen propiedades espectrales idénticas a aquellas que tienen las proteínas con productos finales de glucosilación avanzada. A partir de estudios químicos de resonancia magnética nuclear y de espectroscopía de masa se ha encontrado la estructura de este compuesto: 2-furil-4(5)-(2-furanil)-1H.imidazol (FFI). Este compuesto es un producto de condensación de dos moléculas de glucosa y dos grupos amino derivados de la lisina dentro de un sistema conjugado de tres heterociclos aromáticos (14).

2.6.1.13.4. Susceptibilidad a proteolisis.

La acumulación de proteínas relacionadas con el colágeno en la matriz glomerular extravascular es la principal alteración patológica que caracteriza la nefropatía diabética. Si durante años continua esta acumulación resulta en daño renal progresivo hasta una oclusión capilar glomerular. *In vitro* la susceptibilidad de preparaciones de membrana basal glomerular glucosilada no enzimáticamente para digestión por proteasas no específicas como pepsina, papaína y tripsina, esta considerablemente reducida (14,15).

En pacientes diabéticos se ha observado una excesiva glucosilación no enzimática de fibrinógeno circulante y un depósito de fibrina. Se piensa que la

glucosilación no enzimática de fibrina es la culpable de la baja susceptibilidad a la degradación por la enzima fibrinolítica llamada plasmina, debido a que esta proteasa sólo se adhiere a sustratos de arginina o lisina. Esto sucede por que la glucosa bloquea el grupo épsilon-amino de la lisina en el fibrinógeno y en moléculas de fibrina, interfiriendo en la interacción sustrato-enzima fibrinolítica, es decir, fibrina-plasmina (14,15).

La degradación defectuosa de fibrina inducida por la excesiva glucosilación no enzimática puede conducir a la acumulación de fibrina en varios tejidos *in vivo*. En el riñón diabético, los estudios inmunohistoquímicos han demostrado la presencia de fibrina en la membrana basal capilar glomerular y la persistencia de la fibrina puede contribuir a la oclusión capilar. También se ha reportado un depósito de fibrina en los capilares retinales de los diabéticos y en pequeñas arteriolas epineurales provenientes de pacientes que han presentado neuropatía diabética por mucho tiempo.

El aumento de la glucosilación de la mielina de los nervios implica también un decremento de la susceptibilidad de éstas proteínas a la digestión proteolítica y de la habilidad para reparar las áreas desmielinizadas.

2.6.1.1.3.5. Función de los ácidos nucleicos.

Aunque los grupos amino primarios de los nucleótidos son químicamente menos reactivos a la reducción por azúcares que los grupos épsilon-amino de la lisina, puede ocurrir la glucosilación no enzimática de bases de ácidos nucleicos, lo cual resulta en anomalías en la función del ADN. Se ha encontrado que la reducción por azúcares puede actuar como mutágeno para el ADN.

Los ácidos nucleicos son moléculas de tiempo de vida media largo, por lo que *in vivo* los AGE pueden acumularse progresivamente sobre el ADN. Esta acumulación puede ser la responsable de cambios en el material genético que incluye aberraciones cromosomales, rompimiento de líneas de ADN y una decadencia en la reparación, replicación y transcripción del ADN. Los procesos anteriores ocurren en proporción directa con la edad, pero se aceleran con la hiperglucemia diabética.

La glucosilación no enzimática de ácidos nucleicos puede también ser la responsable del incremento en la frecuencia de anomalías genéticas en niños de madres diabéticas. La exposición del embrión a altas concentraciones de glucosa puede dar lugar a un incremento en la reacción de glucosa o un metabolito de glucosa con el ADN, causando rompimientos cromosomales y mutagénesis (14). Las mutaciones causadas por la glucosilación no enzimática pueden afectar la actividad del sistema inmune y pueden permitir algunos tipos de cánceres.

2.6.1.1.3.6. Reconocimiento macromolecular y endocitosis.

La mayoría de las células de los mamíferos tienen varias estructuras de superficie que reconocen señales químicas particulares tales como las hormonas y neurotransmisores. La unión de alta afinidad de cada señal química a su receptor específico en la superficie de las células inicia una respuesta dentro de la célula que contribuye a mantener la homeostasis celular. Aunque el reconocimiento macromolecular no se entiende bien a nivel bioquímico, se han identificado dos factores críticos en estos procesos que son: la estructura de los carbohidratos y la conformación de las proteínas. La modificación de las proteínas por glucosilación no enzimática puede por lo tanto ser la causante de alterar significativamente el reconocimiento macromolecular y la endocitosis (14).

La formación de los AGE sobre los componentes de la matriz extracelular parece afectar adversamente la función de los tejidos blancos por alteración de dos tipos de interacciones mediadas por receptores con las células. Un tipo de interacción que se altera involucra la familia de receptores de la célula que une péptidos ligados de la matriz. El otro tipo de interacción que se altera es el de los AGE de la matriz con las células, lo cual involucra receptores celulares específicos para un elemento estructural común en los AGE (15).

La alta afinidad del receptor fue identificada primero en monocitos y macrófagos, los cuales son células determinantes en el desarrollo de placas ateroscleróticas. Hay 1.5×10^5 receptores en los macrófagos por cada célula con proteínas modificadas con los AGE. Estos receptores tienen una significancia biológica única por que este es el primer receptor que reconoce una modificación postranslacional que ocurre extensamente *in vivo*. Cuando los macrófagos interactúan con las proteínas modificadas con AGE, estos secretan el factor α de necrosis tumoral (TNF α), interleucina 1 y factor de crecimiento parecido a la insulina en concentraciones que han sido mostradas para estimular la síntesis glomerular de colágeno tipo IV y proliferación de el endotelio, mesangio y células del músculo liso. Ver figura II.10. Los productos finales de glucosilación avanzada tienen actividad quimiotáctica para los macrófagos y los atraen al sitio de la proteína glucosilada, donde ellos la modifican y ayudan a mantener la homeostasis tisular.

Las células endoteliales también expresan receptores específicos para los AGE. Un receptor para los AGE en las células endoteliales para las proteínas con AGE se asocia con un aumento en la actividad pro-coagulante, con la cual actúan sinérgicamente los macrófagos, mediante la acción tromboica del TNF. Esto sugiere que en la diabetes la acumulación excesiva en el tejido subendotelial puede contribuir a la coagulopatía diabética y posteriormente formar la enfermedad

oclusiva vascular. Primero incrementa la actividad del factor tisular, el cual a su vez activa a los factores IX y X de la coagulación a través de la unión del factor VIIa. Al mismo tiempo ocurre una reducción en la actividad de la trombomodulina, la cual evita la activación de la vía anticoagulante mediada por la proteína c cinasa. Además de estos cambios procoagulatorios, la unión de proteínas AGE a los receptores para los AGE localizados en las células endoteliales, induce un incremento en la producción de un péptido llamado endotelin 1, el cual es un potente vasoconstrictor. Como consecuencia de estos cambios inducidos por los AGE sobre la función endotelial, puede ocurrir una excesiva vasoconstricción y trombosis focal.

En pacientes no diabéticos, la endocitosis de lipoproteínas de baja densidad (LDL) ricas en colesterol, influye sobre el desarrollo de la aterosclerosis debido a que afecta tanto la velocidad de acumulación como remoción de los depósitos de colesterol en los tejidos.

Un cambio funcional intrigante de la glucosilación no enzimática es que las lipoproteínas de baja densidad (LDL), al incubarlas con la glucosa inducen uniones covalentes entre la glucosa y los grupos épsilon-amino de los residuos de lisina de las apolipoproteínas humanas. Las LDL son glucosiladas más lentamente y en un grado similar hay mayor síntesis de colesterol. Algunos investigadores piensan que la glucosilación altera muy poco la función de las lipoproteínas en la propensión de los diabéticos a la aterosclerosis debido a que las apolipoproteínas tienen un tiempo de vida corto (14). Otros sin embargo, piensan que están muy relacionadas explicando que las lipoproteínas químicamente alteradas tienen algún papel en la generación de células espumosas (sustrato de la lesión aterosclerosa). Las células espumosas cargadas de lípidos y la aterosclerosis están bien documentadas en animales de experimentación y en pacientes con ausencia o déficit de receptores de LDL y con lesiones ateroscleróticas debidas a hipercolesterolemia inducida por la dieta (50,63).

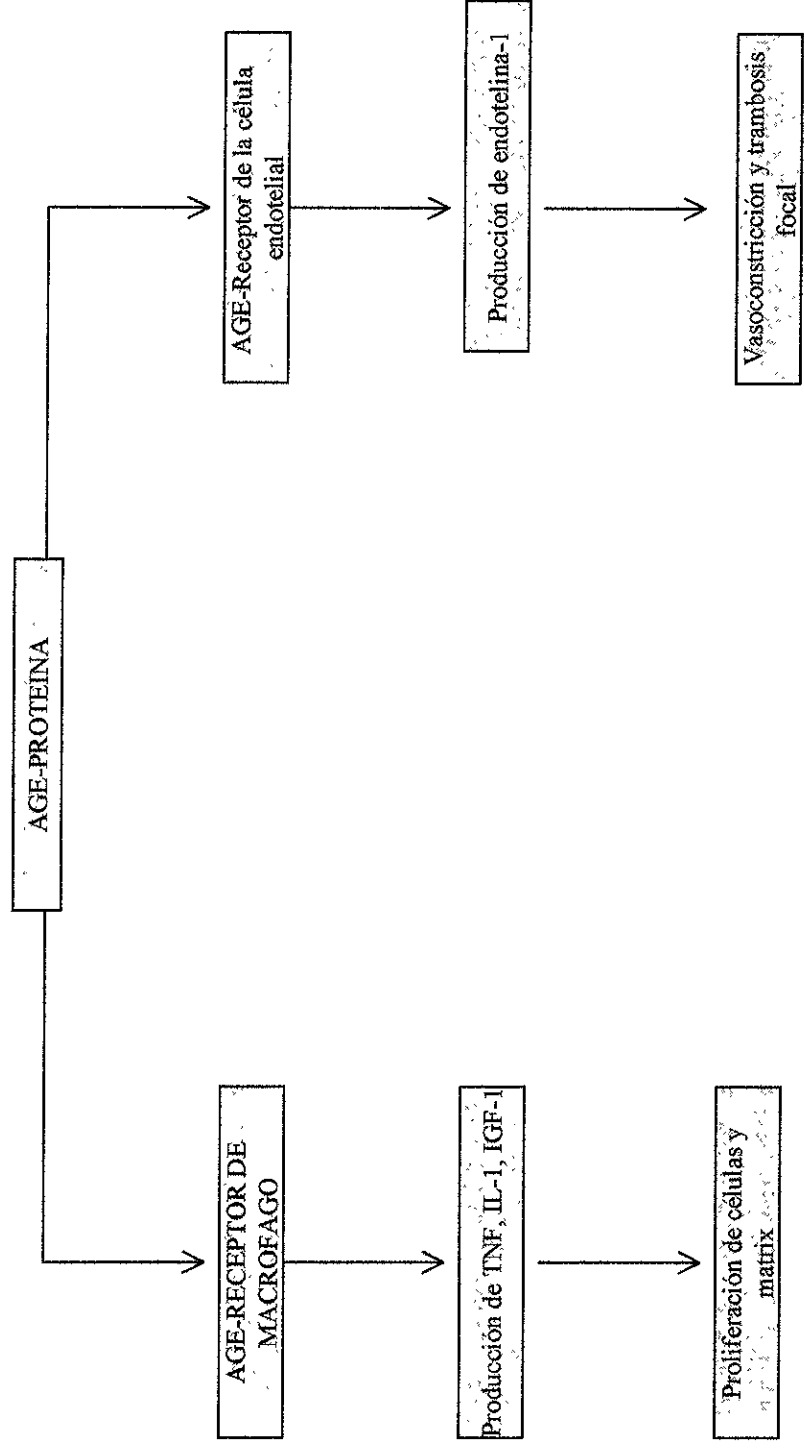


Figura II. 10. Esquema de los mecanismos por los cuales las proteínas con productos de glicosilación final (proteína-AGE) se unen a receptores específicos de macrófagos y células endoteliales.

2.6.1.2. LA VIA POLIOL.

En presencia de hiperglucemia crónica, la vía enzimática polioliol se activa, la vía del sorbitol (polioliol, que no se encuentra en el hígado) es responsable de la formación de fructosa a partir de glucosa (Fig. II.11.) y aumenta su actividad conforme aumenta la concentración de glucosa (47,71). La glucosa experimenta una reducción por el NADPH a sorbitol, reacción catalizada por la aldosa reductasa, seguida por la oxidación del sorbitol a fructosa en presencia de NAD y de la sorbitol deshidrogenasa (polioliol deshidrogenasa). El sorbitol y en general los azúcares-alcohol no se transportan fácilmente a través de la membrana celular y se acumulan en la célula (83). Una vez formados, quedan atrapados intracelularmente y empiezan a convertirse en su respectivo cetoazúcar. La fructosa una vez formada es metabolizada muy lentamente y su salida de la célula es muy pobre por lo que el efecto neto es una acumulación de soluto dentro de la célula, causando hipertonicidad y por lo tanto aumento de la presión osmótica (39).

2.6.1.2.1. EL PAPEL DE LA VÍA DEL POLIOL EN LA PATOLOGÍA DIABÉTICA.

Las altas concentraciones de azúcar en el humor acuoso ocular dan lugar a la penetración de la aldosa reductasa en el lente, una vez dentro, inicia la conversión de glucosa a su azúcar-alcohol (sorbitol). Con esta conversión empieza una acumulación intracelular de agua y se produce el edema lenticular. Las consecuencias de este edema son: afluencia de iones sodio hacia adentro del lente, pérdida de iones potasio y paro total de los mecanismos que utilizan aminoácidos. Inicialmente los niveles de ATP son normales, pero subsecuentemente van disminuyendo. Hay una pérdida de glutatión reducido, pequeños péptidos y proteínas. Estos eventos se muestran en la figura II. 12.

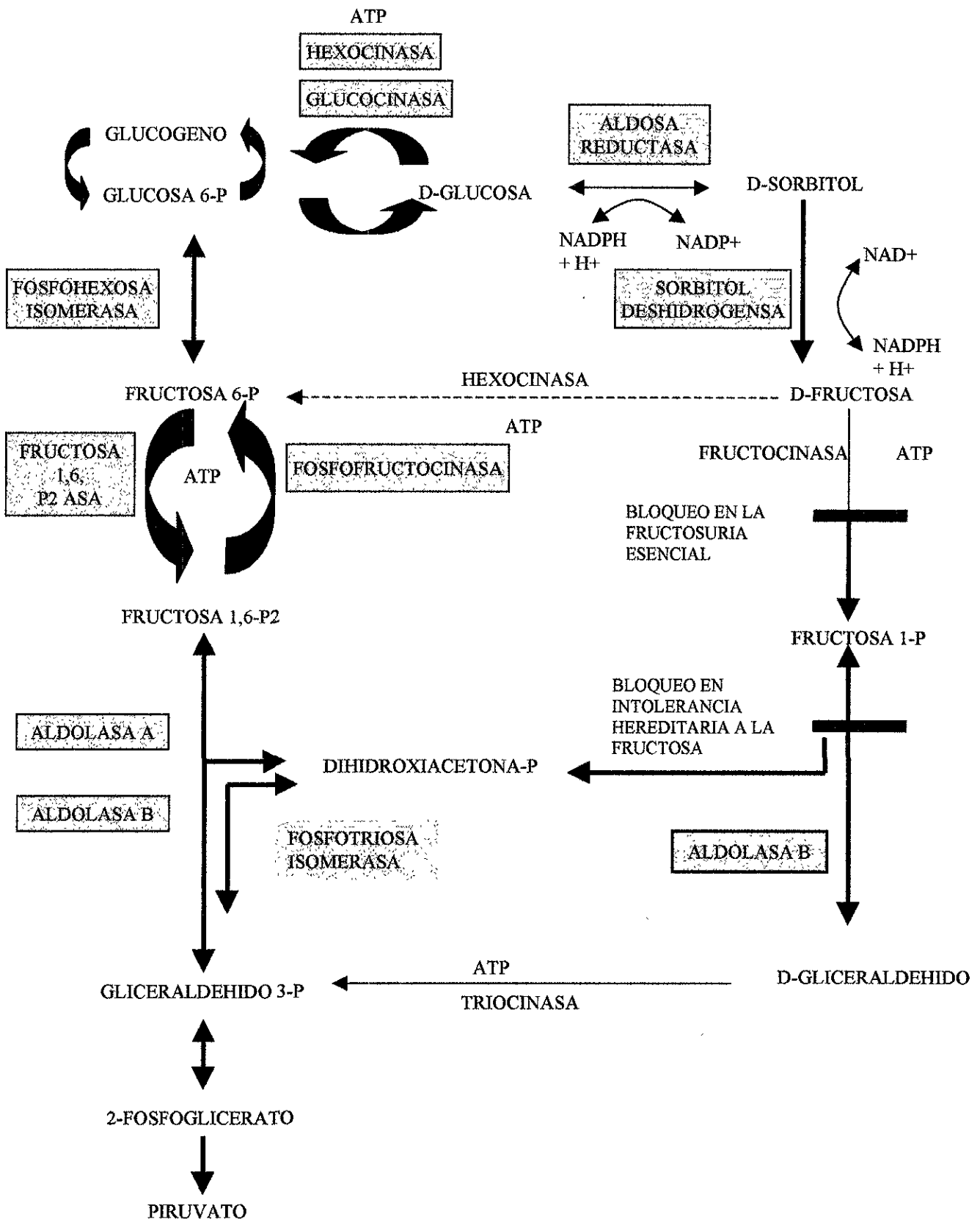


Figura II.11 Vía del poliol

NIVEL DE GLUCOSA ALTO

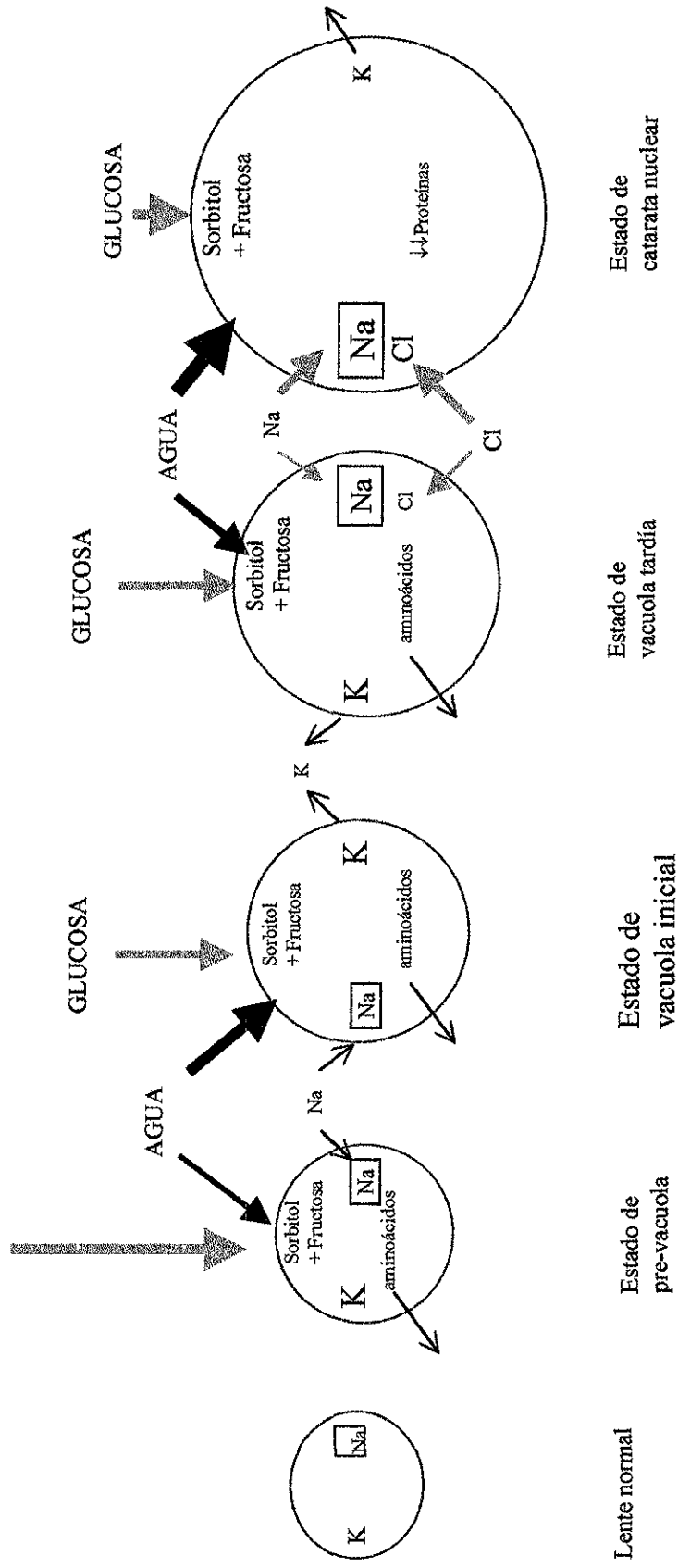


Figura II.12. Esquema de los cambios que ocurren durante el desarrollo de la catarata diabética.

La acumulación de azúcar-alcohol continúa hasta el desarrollo de vacuolas. Estos procesos de edema y desequilibrio electrolítico eventualmente resulta en una pérdida precipitada de integridad osmótica, con afluencia masiva de iones sodio y agua, y la súbita aparición de la opacidad lenticular (36).

En la neuropatía diabética se implica a la enzima ATPasa dependiente de Na^+ y K^+ en la patogénesis, ya que se ha observado una disminución de su actividad una vez que se activa la vía del poliol, iniciando una acumulación de sorbitol y fructosa y una disminución en la concentración de mioinositol en el nervio periférico. La disminución en la actividad de la ATPasa dependiente de Na^+ y K^+ lleva a tener una alta concentración de sodio intra-axonal y a un bloqueo en la despolarización de la membrana del nervio. De hecho, hay una correlación significativa entre la velocidad de conducción del nervio y la actividad de la ATPasa (78).

2.6.1.3.CICLO DEL FOSFATIDIL INOSITOL.

Las hormonas y los mediadores del sistema nervioso transmiten la información a través de la membrana plasmática por mecanismos de transducción. Uno de los mecanismos de transducción de la señal, es el relacionado con la movilización del calcio y emplea la combinación de segundos mensajeros: el trifosfato de inositol y el diacilglicerol. Los niveles intracelulares de éstos mensajeros están determinados por un equilibrio adecuado entre su síntesis y su degradación, éstos procesos se llevan a cabo por dos vías: la vía de los lípidos y la vía del inositol. Ambas vías se combinan y constituyen una interrelación metabólica denominada ciclo del fosfatidilinositol (70).

En la figura II.13. se representa el ciclo del fosfatidilinositol (48), que se divide en dos vías, la vía de los lípidos a la derecha y la vía del inositol a la izquierda. En el centro de la figura se representa al fosfatidilinositol difosfato (P1P2) precursor de los segundos mensajeros.

Una señal extracelular, al llegar a la membrana establece contacto con un receptor, el cual, al modificar su conformación, inicia una serie de pasos en los que participan las proteínas G que al unirse al GTP activan la enzima fosfolipasa C, la cual da origen a los dos mensajeros mencionados, iniciando así el ciclo del fosfatidilinositol por la fosfolipasa C. En la vía de los lípidos se forma la molécula de diacilglicerol, a partir de la hidrólisis del fosfatidilinositol difosfato. El otro segundo mensajero que es el trifosfato de inositol se forma por la hidrólisis de P1P2 por la fosfolipasa C, en la vía del inositol. Esta vía es muy importante, ya que si por alguna causa es inhibida, las señales extracelulares ya no serán difundidas al interior de la célula (48).

Principalmente en el tejido nervioso, retina y riñón, la hiperglucemia produce inhibición competitiva entre la captación de glucosa y el mioinositol (el inositol en los tejidos se encuentra como el isómero mioinositol) dependiente del sodio, produciendo reducción del mioinositol intracelular, necesario para la síntesis del fosfatidilinositol de membranas celulares. La disminución del fosfatidilinositol produce una reducción en la actividad de la bomba Na, K-ATPasa de membrana, la cual es responsable de mantener gran parte del metabolismo energético del nervio en reposo. La actividad reducida de la bomba de Na, K-ATPasa causa mayor disminución de la captación de mioinositol, lo que crea alteración metabólica cíclica produciendo una disminución de la velocidad de conducción nerviosa, con degeneración axonal y pérdida segmentaria de mielina, que finalmente produce lesiones estructurales y funcionales en el tejido afectado. Ver figura II.14. (25).

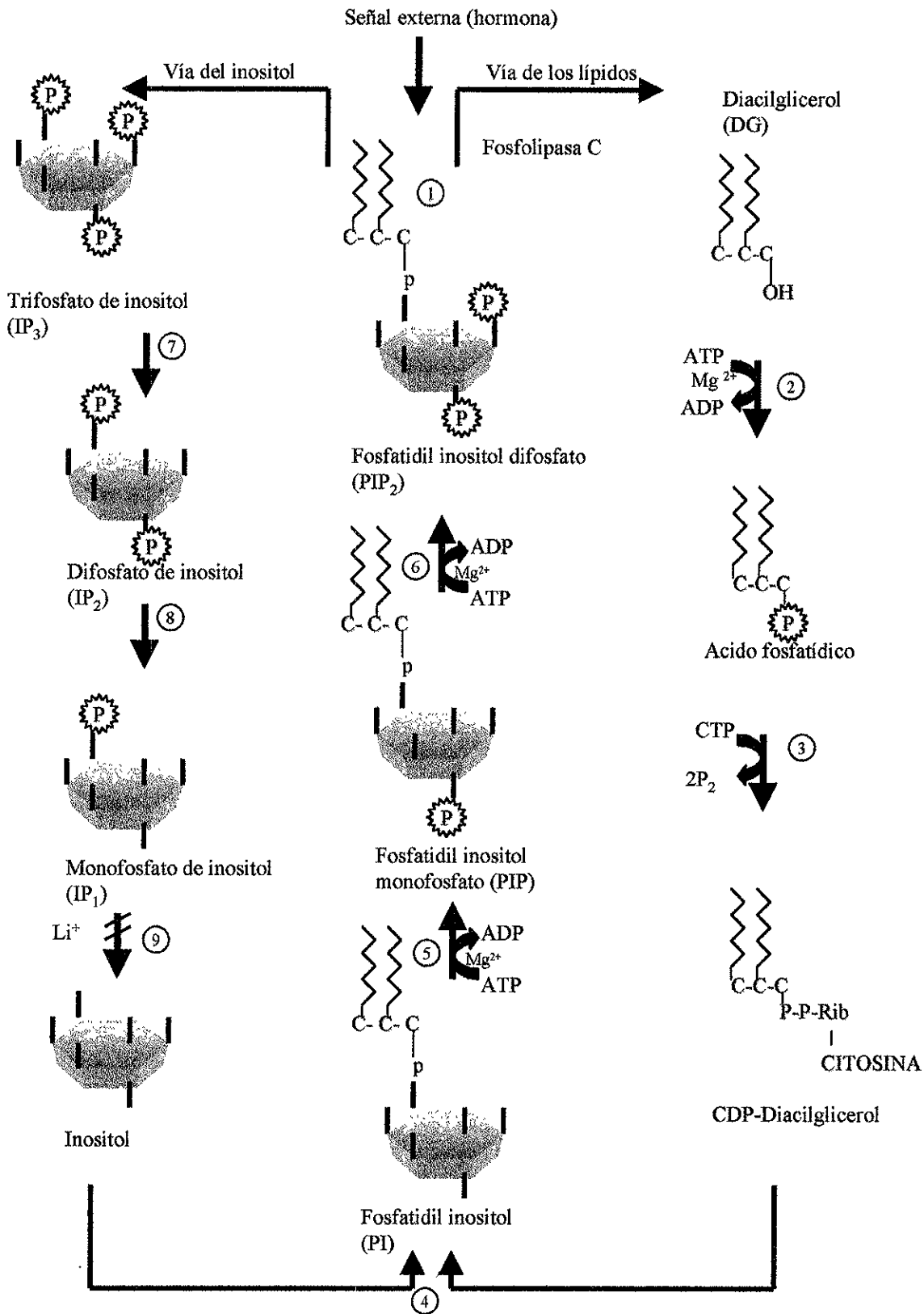


Figura II.13. Ciclo del fosfatidilinositol.

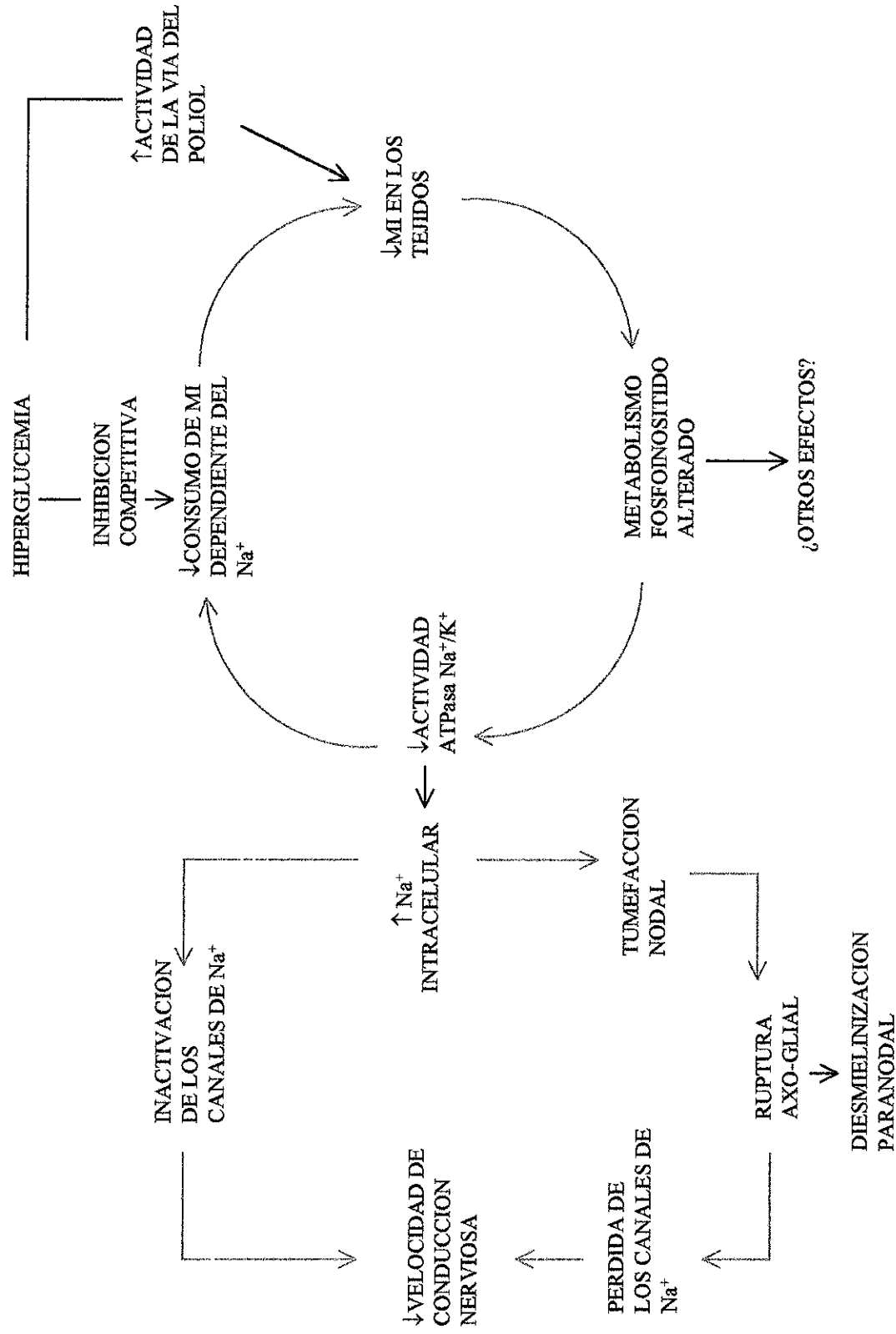


Figura II. 14. Interrelación entre la hiperglucemia, vía polirol, mioinositol (MI), ATPasa Na⁺/K⁺ y conducción nerviosa

2.6.1.4. HIPOXIA TISULAR RELATIVA.

El déficit de insulina y alteración de la utilización de la glucosa aumenta la agregación de los glóbulos rojos y plaquetas produciendo hiperviscosidad e hipercoagulabilidad en sangre con disminución del flujo sanguíneo. La mayor actividad de la vía poliol en glóbulos rojos disminuye la capacidad de deformación de los mismos y su paso a través de los capilares; la glucosilación de la hemoglobina altera la afinidad por el oxígeno. Estos factores, más el edema pericapilar, tienen influencia en el aporte de oxígeno a los tejidos, alterando más el metabolismo energético celular y contribuyendo a la lesión tisular inducida por la hiperglucemia (83).

2.6.1.5. OXIDANTES POR ESTRÉS.

El endotelio libera una sustancia que induce la relajación del músculo liso por incremento de la producción de monofosfato guanosa cíclico (GMPc). Este factor es llamado factor de relajación derivado del endotelio, u óxido nítrico (NO). El NO se sintetiza a partir de la arginina, el oxígeno molecular y el NADPH, por acción de la enzima óxido nítrico sintetasa. El NO causa vasodilatación, inhibe la agregación y adhesión plaquetaria y puede actuar como radical libre con citotoxicidad para ciertos microorganismos, células tumorales y células de algunos tejidos. La exposición a elevadas concentraciones de glucosa *in vitro* causa daño selectivo de la relajación dependiente del endotelio. El estrés oxidativo inducido por la hiperglucemia se considera como la fuente de la alteración de la relajación endotelial en la diabetes. El estrés oxidativo proviene de la acumulación del anión superóxido (O_2^-) de los radicales libres derivados del oxígeno (ORL), ya que éste inactiva al factor de relajación dependiente del endotelio (39,58).

Una posible fuente de los ORL en la diabetes, es la autooxidación de la glucosa. La glucosa puede oxidarse, lo cual genera radicales libres, peróxido de hidrógeno y cetoaldehídos reactivos. Estos últimos compuestos pueden participar en la formación de proteínas glucosiladas, las cuales son fuentes de ORL. El término "productos de glucoxidación" se ha usado para indicar la autooxidación de productos tales como la carboximetil-lisina y la pentosidina que se forman a partir de los productos de Amadori. El incremento en el flujo de glucosa a través de la vía del poliol, la cual es hiperactiva en la hiperglucemia, agota el NADPH, el cual es requerido para la generación de NO a partir de arginina. Además el incremento de la oxidación del sorbitol incrementa el descontrol en la relación NADH/NAD⁺. Este desequilibrio redox, aumenta la producción de O²⁻ a partir de la vía de reducción de prostaglandina G2 a prostaglandina H2 por la postraglandina hidroperoxidasa que usa NADH como un cosustrato. Ver figura II.15. Otra posible fuente de especies de oxígeno reactivas, es la glucosilación de la Cu-Zn-superoxido dismutasa (Cu-Zn-SOD).

2.6.1.5.1. IMPLICACIONES PATOLÓGICAS.

La posibilidad de que los ORL jueguen un papel importante en la patogénesis de las complicaciones vasculares de los diabéticos se ve apoyada por los estudios que muestran que los antioxidantes como la vitamina E, superóxido dismutasa (SOD), catalasa, el glutatión reducido y el ácido ascórbico, están disminuidos en todos los tejidos y sangre de los diabéticos, así mismo tienen niveles elevados de ORL (39).

Las anomalías que han sido relacionadas con la vía NO/O²⁻ en humanos con *Diabetes mellitus*, son esencialmente hipertensión e hiperlipidemia.

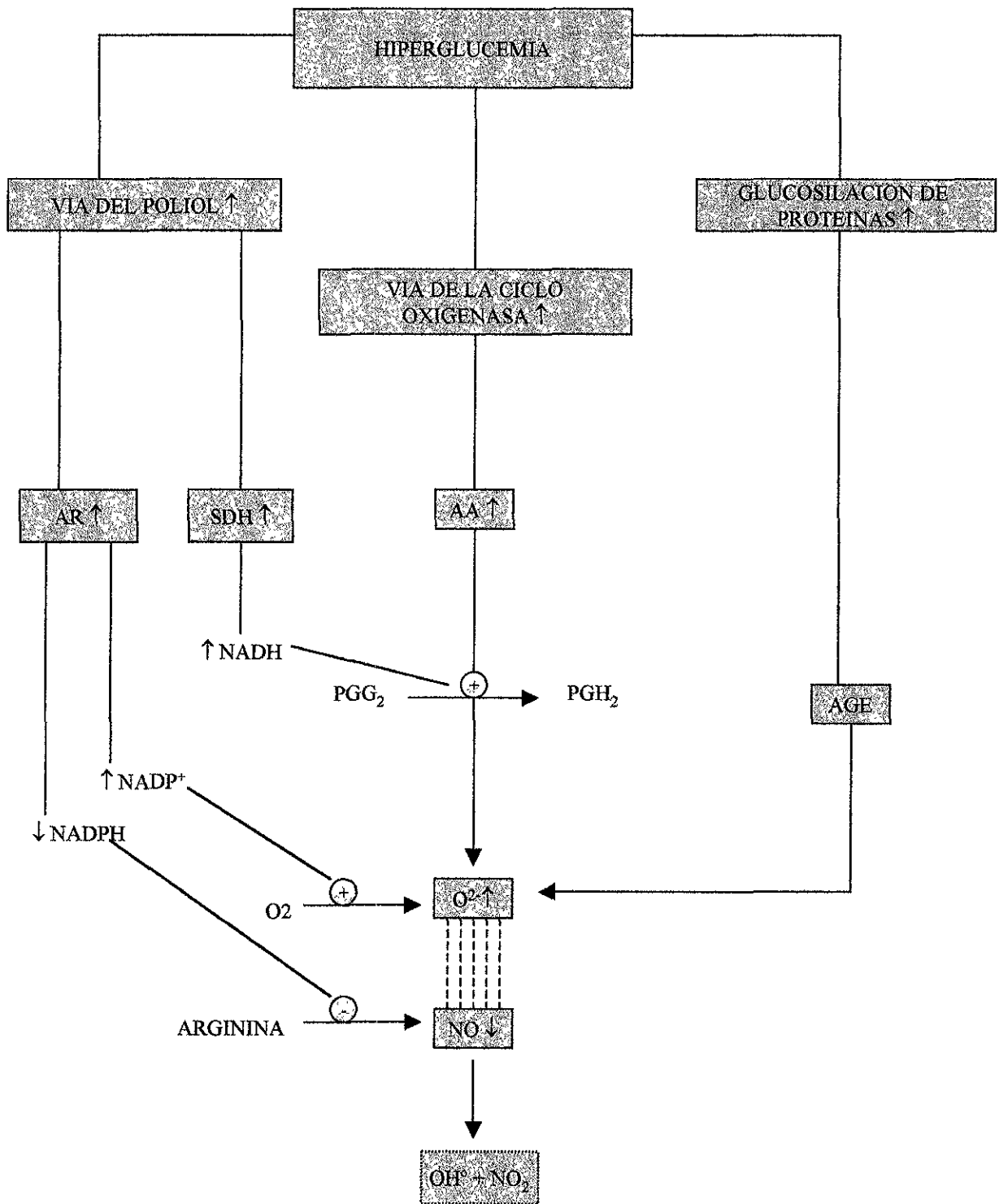


Figura II.15. Posible mecanismo por el cual la hiperactividad de algunas vías metabólicas estrictamente relacionadas con la hiperglucemia puede causar un desequilibrio entre los 2 radicales O₂⁻ y NO.
 AR aldosa reductasa; SDH sorbitol deshidrogenasa; AA. Ácido araquidónico; PGG₂ prostaglandina G₂; PGH₂ prostaglandina H₂; OH[•], radical hidroxil; NO₂ bióxido de nitrógeno. La formación del OH[•] y el NO₂ de la descomposición del peroxinitrito todavía no ha sido demostrado *in vivo*

Una disfunción del sistema NO/O²⁻ puede ser un mecanismo común por el cual aparentemente se propician condiciones para algunas complicaciones vasculares crónicas. Una disminución en la producción basal de NO, así como un incremento en la concentración de O²⁻ podría inclinar la balanza en favor de la vasoconstricción e hiperviscosidad sanguínea, y así de este modo favorecer el desarrollo de desordenes vaso-oclusivos a nivel coronario, cerebral y venas periféricas (39). El estrés oxidativo ha sido implicado en la aterosclerosis, aterosclerosis acelerada y complicaciones microvasculares de la diabetes. El estrés oxidativo puede resultar en daño general de lípidos, proteínas y ADN, incluyendo la modificación oxidativa del colesterol LDL, lo cual se cree que es el factor central en la patogénesis de la aterosclerosis y la disfunción endotelial (39), ya que se piensa que las LDL glucosiladas y oxidadas pueden dañar el endotelio en forma directa o indirecta mediante la generación de complejos inmunes o citotoxicidad (50). La glucosilación de la Cu-Zn-SOD produce daños sobre el ADN.

2.6.2. COMPLICACIONES MICROVASCULARES.

Los tejidos más afectados en la diabetes son la retina, el riñón y los nervios debido a que son permeables a la glucosa, produciendo retinopatía y neuropatía, ya que un incremento en la concentración de la glucosa sanguínea incrementa la acumulación intracelular tanto de glucosa como de sus productos metabólicos. Los mecanismos propuestos por los cuales la hiperglucemia puede provocar complicaciones microvasculares y neurológicas, incluyen el aumento en la acumulación de polioles a través de la vía de la aldosa reductasa y los productos finales de glicosilación avanzada.

2.6.2.1. RETINOPATÍA.

La retinopatía es considerada como la afección de la retina, ésta es una estructura situada en el fondo del ojo que tiene una circulación de sangre muy rica, siendo ésta la capa más sensible de los ojos y con la que realmente se puede ver, esto se debe a que es la retina la que se encarga de integrar las imágenes que percibimos a través del sentido de la vista.

Una de las complicaciones más serias de la enfermedad diabética es la retinopatía, ya que multiplica por 25 el riesgo de padecer ceguera y favorece el desarrollo prematuro de cataratas. Tanto la gravedad como la frecuencia de la retinopatía diabética se relacionan con la duración de la enfermedad, la edad de comienzo y el grado de control del equilibrio metabólico de glucosa (Cuadro II.7.). En pacientes que padecen diabetes desde hace más de 15 años, la retinopatía está presente en más del 60% de los sujetos y aumenta al 90% en sujetos con DMID durante más de 30 años. De éste último grupo un tercio están afectados por retinopatía proliferativa. Durante los primeros 5 años posteriores al diagnóstico de la diabetes tipo I raramente aparecen alteraciones en la retina (94).

2.6.2.1.1. PREVENCIÓN.

Algunos estudios apoyan la hipótesis de que la aparición y progresión de la retinopatía diabética está relacionada estrechamente con el control metabólico de la glucosa. En todos estos estudios se estableció una relación entre la duración de la diabetes y la presencia y grado de retinopatía. No obstante lo anterior, no es posible afirmar que la asociación es en definitiva de causa-efecto ni que las intervenciones diseñadas para reducir los niveles de glucemia, resultarán totalmente en una disminución del riesgo de retinopatía.

El primer estudio prospectivo, con distribución al azar, para investigar el efecto del control diabético óptimo en la retinopatía diabética, fue el estudio de Job, quien distribuyó al azar a 42 pacientes en un grupo que recibió una sola dosis de insulina intermedia al día o en un grupo que recibió dosis múltiples de la hormona y los siguió durante tres años, utilizando el número de microaneurismas en el ojo más dañado, como medición del curso de la retinopatía. El investigador concluyó que el número de microaneurismas fue menor en el grupo de una sola dosis al día. El estudio no se considera concluyente por el número pequeño en el seguimiento y porque la diferencia de control en los grupos fue limítrofe (94).

RETINOPATÍA DIABÉTICA NO PROLIFERATIVA
<p>90 % de los pacientes padecen diabetes por más de 30 años.</p> <ul style="list-style-type: none"> * microaneurismas * hemorragias retinianas. * exudados algodonosos. * exudados densos. * hemorragias y/o exudados maculares (reducción de la visión).
RETINOPATÍA DIABÉTICA PROLIFERATIVA
<p>35 % de los pacientes padecen diabetes desde hace más 30 años.</p> <ul style="list-style-type: none"> * proliferación vascular papilar. * hemorragias en el vítreo (reducción de la visión). * desprendimiento retiniano (reducción de la visión). * glaucoma neovascular (reducción de la visión).

Cuadro II.7. Clasificación de las lesiones retinianas asociadas a *Diabetes mellitus*.

Otro estudio diseñado para investigar el efecto del control intensivo frente al tratamiento convencional sobre el desarrollo de las complicaciones retinianas, renales y neurológicas en pacientes con DMID es el realizado por la DCCT (Diabetes Control and Complications Trial). El estudio divide al grupo en pacientes en los que se espera una prevención primaria (sujetos sin lesiones con uno a 15 años de evolución). En este estudio no se ha encontrado una prueba fuerte de que la mejoría del control metabólico puede prevenir el desarrollo de retinopatía. No obstante lo anterior, otros estudios empleando la hemoglobina A1c (Hb A_{1c}) sí han hallado correlación; las lesiones preproliferativas y proliferativas aumentan exponencialmente con el aumento de la Hb glucosilada (24,94).

2.6.2.1.2. DETECCION.

Para la detección de la retinopatía diabética antes de que inicien los síntomas de pérdida de visión, el paciente debe realizarse un análisis con un oftalmólogo, por lo menos una vez al año. Es importante identificar la retinopatía oportunamente y el tratamiento, en cuanto aparezcan los primeros signos de lesiones vasculares en retina (83).

Para la examinación se requiere una dilatación de pupila; la evolución natural de la retinopatía inicia con una angiopatía retiniana, ya que es la primera alteración demostrable en el fondo del ojo y consiste en el ensanchamiento venoso, grados variables de arterioesclerosis con aumento de reflejo arteriolar y compresión en cruces de la arteria sobre la vena. Posterior a esto vienen ya los síntomas y signos, ya sea de una retinopatía no proliferativa o proliferativa (24,94).

2.6.2.1.3. TRATAMIENTO.

El resultado de varios estudios clínicos sirve como base para establecer el tratamiento de la retinopatía diabética proliferativa.

El uso de aspirina, como inhibidor plaquetario, se ha sugerido como útil, sin embargo su eficacia no se ha demostrado a largo plazo. El dobesilato de calcio, los bioflavonoides de rutina y otros disponibles en el mercado tampoco han sido útiles.

En el estudio y tratamiento temprano de retinopatía diabética, la fotocoagulación previene la pérdida visual en pacientes con retinopatía proliferativa y edema macular.

* Fotocoagulación.

El procedimiento se basa en su capacidad para destruir vasos neoformados con permeabilidad anormal, sobre todo cuando se trata de las regiones perimaculares y producir adherencia corioretiniana para evitar el desprendimiento de la retina. Con la fotocoagulación se destruyen microaneurismas, vasos retinianos de permeabilidad anormal, áreas de neovascularización, áreas de edema retiniano o de microinfartos capilares en partes estratégicas. La fotocoagulación se lleva a cabo con arco de xenón o con láser de argón (24,94).

* Vitrectomía.

El procedimiento consiste en introducir, por un pequeño orificio, un instrumento, que corta y aspira fragmentos del vítreo, sustituyéndolo por solución salina, con lo cual se logra la resección de hemorragias en el vítreo y tejido fibroso con neovascularización. Es útil en los casos en los que sólo existe fibrina o membranas vítreas con hemorragias, pero no lo es cuando la retina ha sido dañada previamente por retinopatía avanzada, fibrosis y degeneración. Los mejores resultados se obtienen cuando no hay desprendimiento de retina (24,94).

2.6.2.2. NEFROPATÍA.

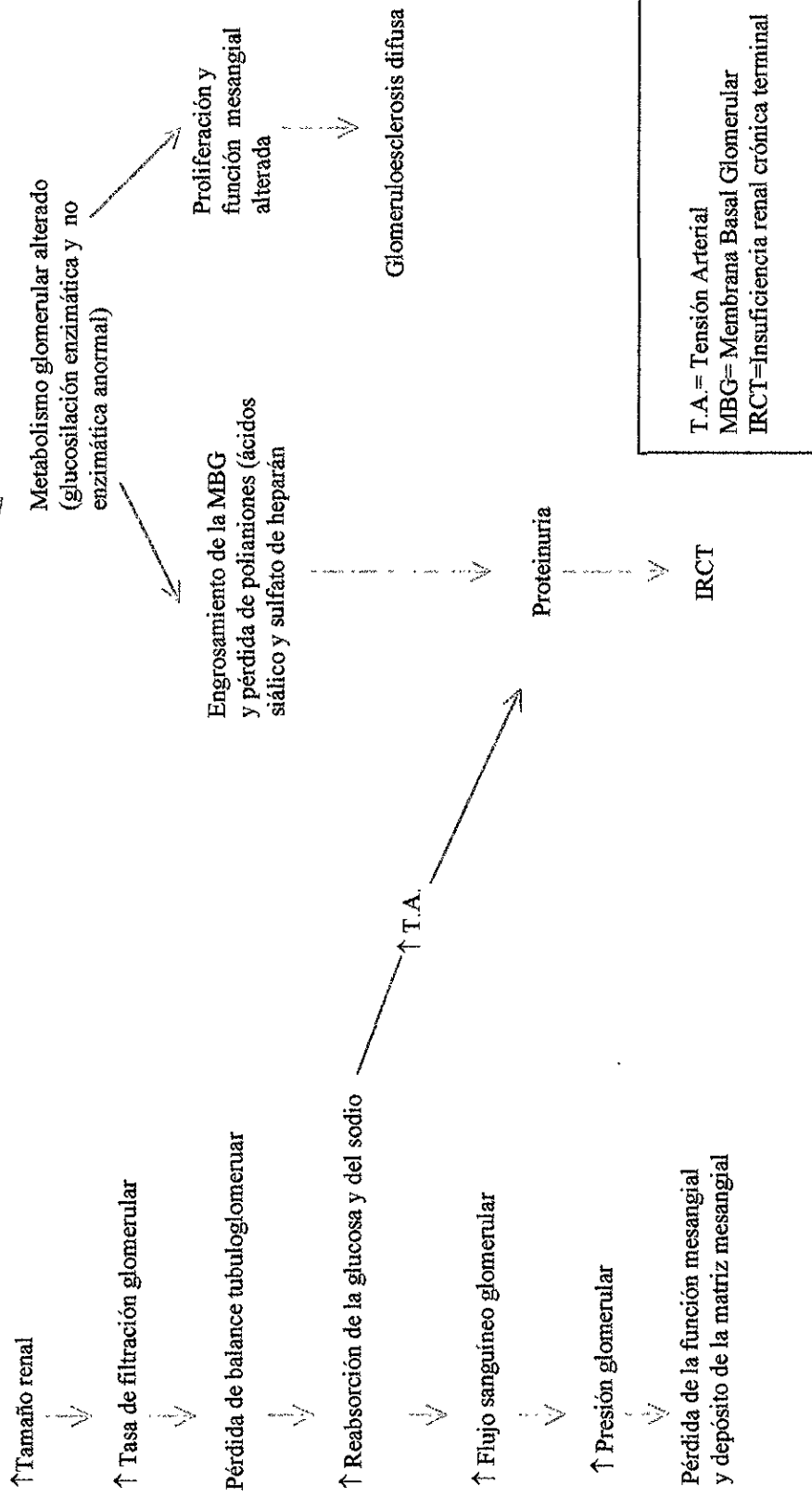
La nefropatía diabética es la causa de la muerte del 35 al 40% de los pacientes diabéticos, con un claro predominio en los varones y en personas con un comienzo precoz de la enfermedad. El hallazgo anatomopatológico presente en el 90% de los casos es conocido como una glomeruloesclerosis difusa, en la cual la membrana basal de los capilares glomerulares está globalmente espesa y es acompañada de una proliferación de los elementos del mesangio y un aumento de la propia matriz. La hiperglucemia causa hipertensión intraglomerular e hiperfusión renal. El aumento de la presión glomerular produce un depósito de proteínas en el mesangio, lo cual conduce a una glomeruloesclerosis y daño renal. En la figura II.16. se presenta un esquema hipotético para el desarrollo de la insuficiencia renal crónico terminal (IRCT) . Debido a esto las estrategias para la prevención de la nefropatía diabética son: el control de la hiperglucemia, el tratamiento de la hipertensión, la restricción de proteínas en la dieta y evitar el uso de fármacos o colorantes nefrotóxicos (27).

2.6.2.2.1. PREVENCIÓN.

La mayor parte de los estudios muestran que el control metabólico puede retrasar la progresión de la nefropatía, y debido a que los síntomas clínicos aparecen tardíamente, es necesario identificar las primeras etapas de la alteración de la función renal, teniendo así un significado predictivo del desarrollo del síndrome, y tratar de retrasar el proceso a través del control metabólico óptimo (24,27,94).

DIABETES MELLITUS

Alteración del metabolismo hormonal y de los carbohidratos



T.A.= Tensión Arterial
 MBG= Membrana Basal Glomerular
 IRCT=Insuficiencia renal crónica terminal

Figura II.16. Esquema hipotético para el desarrollo de la IRCT

Se ha encontrado que los inhibidores de la ECA (enzima convertidora de la angiotensina) pueden retrasar el inicio y la progresión de la nefropatía diabética. Un estudio con captopril mostró un efecto protector renal independientemente de sus efectos sobre la presión sanguínea. En pacientes normotensos con microalbuminuria la terapia con inhibidores de la ECA produjo estabilización de la concentración sérica de creatinina y de la albuminuria. Por lo que estos estudios sugieren que los inhibidores de la ECA previenen la progresión de enfermedad renal aún en ausencia de hipertensión (24).

2.6.2.2.2. DETECCIÓN.

El DCCT divide la enfermedad renal diabética en tres estados; microalbuminuria (excreción urinaria de albúmina ≥ 40 mg/día), albuminuria (excreción urinaria de albúmina ≥ 300 mg/día) y nefropatía avanzada (excreción urinaria de albúmina ≥ 300 mg/día y depuración de creatinina < 70 mL/min por 1.73 m² de superficie corporal). Recientemente se ha mostrado que la presencia de microalbuminuria indica la existencia de una lesión prematura en la membrana basal glomerular. Sobre la base de los diferentes valores de excreción urinaria de albúmina que se tienen durante el desarrollo de la nefropatía diabética se tiene una clasificación de las diferentes etapas en la evolución de la lesión renal (Cuadro II.8.).

También es posible correlacionar el aumento de presión arterial con la presencia de una excreción urinaria de albúmina. La relación entre la elevada presión arterial y la excreción urinaria de albúmina por encima de 20 μ g/min en el paciente diabético, indica la instauración de un tratamiento antihipertensivo precoz antes de que sobrevenga la hipertensión estable. Debido a lo anterior la albúmina urinaria debe ser medida anualmente en todos los pacientes adolescentes que han

tenido DMID por 5 años o más y en todos los pacientes con DMNID, como medida para detectar daño renal.

Estadio	Hiperfiltración	Lesión histológica	Microalbuminuria	Hipertensión arterial	Macroalbuminuria	Hiperlipemia	Hipera-zoemia
I Hipertrofia renal e hiperfiltración	+	-	-	-	-	-	-
II Silencio clínico	+	+	-	-	-	-	-
III Nefropatía incipiente	+/-	+	+	+/-	-	+	-
IV Nefropatía clínica	-	++	++	+	++	++	-
V Insuficiencia renal crónica terminal	-	+++	+++	++	+++	+++	++

Cuadro II.8. Evolución de la nefropatía diabética.

2.6.2.2.3. TRATAMIENTO.

El tratamiento para cada estadio se resume en el cuadro II.9. El control metabólico juega un papel muy importante en el control de la nefropatía, especialmente en los estadios I al III. Un consumo elevado de proteínas se relaciona con hiperfiltración glomerular; una dieta baja en proteínas puede retrasar la progresión de cualquier tipo de nefropatía sin importar su causa. En general no

se recomiendan dietas con contenidos proteínicos menores de 40 g/día. Además, en sujetos con nefropatía avanzada es necesario restringir el contenido de sodio y colesterol. En los sujetos que reciben inhibidores de la ECA es recomendable restringir el potasio (94). La reducción de la presión arterial puede disminuir la albuminuria y retrasar la progresión de la patología. Por tal motivo se sugiere un tratamiento energético de la hipertensión arterial en los diabéticos (24, 94).

* Diálisis.

La mayoría de los autores sugieren que un procedimiento dialítico debe ser instituido cuando las cifras de creatinina sérica oscilen entre 7 y 9 mg/dL; sin embargo no es raro que algunos casos puedan permanecer sin apoyo dialítico aún con cifras mayores.

ESTADIO	TRATAMIENTO
I Hipertrofia renal e hiperfiltración	Control glucémico
II Silencio clínico	Control de la presión arterial
III Nefropatía incipiente	Control glucémico
IV Nefropatía clínica	Control de la presión arterial Restricción proteínica Inhibidores de la ECA Tratamiento de hiperlipemias
V Insuficiencia renal crónica terminal	Lo anterior con o sin diálisis Transplante renal

Cuadro II.9. Tratamiento de la nefropatía diabética.

* Hemodiálisis.

La ventaja de la hemodiálisis es que es de acceso inmediato y no requiere cirugía mayor. Se relaciona con progresión de la retinopatía y de la aterosclerosis en forma elevada. Su costo es muy elevado. Los pacientes con frecuencia se sienten mal con respecto al síndrome de postdiálisis. Requiere generalmente tres sesiones por semana de cuatro a seis horas de duración. La calidad de vida es muy pobre en el diabético. Se obtiene supervivencia del 50% hasta tres años.

* Transplante renal.

Permite la completa reversión de la uremia, estabilización de la nefropatía, algunos conservan la potencia sexual; permite permanecer largos períodos sin ser hospitalizados; se asocia con progresión de lesiones vasculares; por la administración de inmunosupresores, puede haber infecciones y dificultades de control metabólico.

2.6.2.3. NEUROPATIA.

La neuropatía es una complicación frecuente de los nervios, donde se tienen alteraciones sensoriales periféricas, de conductibilidad tanto motora como cardiovascular, y pupilares (27,62). La neuropatía se clasifica como sigue (94,83):

* **Neuropatía Autonómica**

1. Cardiovascular:

- A) Hipotensión arterial Ortostática (disminución de la tensión arterial de decúbito a la bipedestación, en 30 mmHg sistólica y 10 mmHg diastólica).
- B) Taquicardia de reposo.
- C) Arritmias sinusales.

2. Gastrointestinales:

- A) Disfunción de la motilidad del esófago. Casi siempre asintomática.
- B) Estómago. Los alimentos permanecen más de 100 minutos en el estómago (gastroparesia), se fermentan y originan gas intraluminal, manifestando distensión abdominal, náusea y vómito.
- C) Intestino delgado. Diarrea de predominio nocturno acuosa intermitente, persistente o alterna con estreñimiento, puede coexistir con esteatorrea.
- D) Intestino grueso. Estreñimiento por disminución del reflejo gastrocólico; puede causar oclusión o perforación intestinal por fecalomas.
- E) Esfínter anal: incontinencia.

3. Urogenitales:

- A) Cistopatía con vejiga retencionista, globo e incontinencia vesical, y urosepsis de repetición.
- B) Impotencia sexual en el hombre.
- C) Disminución de libido en la mujer y dispareunia con escasa lubricación vaginal con respuesta vasocongestiva genital incorrecta.

4. Neuropatía autonómica del sistema de contrarregulación:

- A) Hipoglucemia asintomática o de difícil recuperación, presente después de 10 años de evolución, con disminución en la liberación de hormonas contrarreguladoras (catecolaminas, glucagón).

***Neuropatía Periférica**

1. Neuropatía sensitiva:

Disminución de sensibilidad superficial y profunda.

2. Neuropatía motora:

Ausencia o disminución de los reflejos osteotendinosos de tobillos o rodillas; se presenta también como mononeuropatía afectando los nervios craneales III y VI de músculos extraoculares; son asimétricas de inicio repentino.

3. Neuropatía mixta:

Se asocian los síntomas neuropáticos sensitivos y motores, presentes en el mismo paciente; en situaciones extremas presentan amiotrofia diabética.

2.6.2.3.1. PREVENCIÓN.

La relación entre hiperglucemia y neuropatía se ha establecido claramente, por lo que, para la prevención es necesario un estricto control metabólico. La conducción nerviosa motora y sensitiva pueden ser corregidos al menos parcialmente, por control de la hiperglucemia (24). Recientemente hay datos de que algunos inhibidores de la aldosa reductasa son útiles para mejorar la velocidad de conducción nerviosa e incrementa la regeneración de daño a los axones.

2.6.2.3.2. DETECCIÓN.

La detección se realiza hasta el momento en que los pacientes muestran síntomas clínicos propios de la neuropatía, como los descritos a continuación (80):

- ◇ Visión borrosa, cefalea o síncope; estos síntomas no se manifiestan mientras el paciente está sentado, aparecen cuando se levanta y desaparecen al sentarse o acostarse;
- ◇ Gases intestinales, distensión abdominal, náuseas y vómito de alimentos no digeridos.
- ◇ Impotencia sexual en el hombre de inicio gradual y su gravedad se acentúa con el tiempo, sin afectar el libido y puede asociarse con eyaculación retrógrada.
- ◇ Disminución de la sensibilidad de distribución simétrica, distal en guante y calcetín con hormigueo, hipoestesis, disestesias dolorosas con síntomas ardorosos y lancinantes.

2.6.2.3.3. TRATAMIENTO.

Los signos y síntomas de la neuropatía sensitiva o motora, responden a la corrección de la hiperglucemia; los autonómicos son resistentes. El tratamiento de la neuropatía periférica incluye antidepresivos tricíclicos, fenitoina, carbamazepina y fármacos antiinflamatorios no esteroides. La amitriptilina es el principal fármaco antidepresivo utilizado. En el tratamiento de la neuropatía autonómica se utiliza metoclopramida o eritromicina para la gastroparesis y en los casos de hipotensión ortostática sintomática se ha empleado con éxito el 9-fluorhidrocortisona (24, 75, 83, 94).

2.6.3. COMPLICACIONES MACROVASCULARES.

Las complicaciones macrovasculares son las principales causas de morbilidad y mortalidad en sujetos con diabetes en poblaciones industrializadas. Sin embargo, es también bien sabido que hay diferencias sustanciales entre estas poblaciones en la incidencia de macroangiopatía (51, 57).

La aterosclerosis es una complicación crónica degenerativa sistémica muy frecuente y acelerada en el diabético, de etiología múltiple, que daña los grandes vasos. Representa el 80% del total de las causas de mortalidad y 77% del total de las hospitalizaciones por complicaciones tardías. La diabetes por sí misma acelera su instauración en 200-400%, sobre todo cuando se asocia con hipertensión arterial, obesidad y dislipidemia, el riesgo en la mujer diabética se incrementa al llegar ésta a la menopausia. En el paciente diabético, la etiología de la aterosclerosis es multifactorial (83), además de los factores que constituyen el síndrome X se tiene hiperfibrinogenemia, incremento en la actividad del factor de Von Willebrand, aumento de la adhesividad y agregación plaquetaria

(hipercoagulabilidad), incremento del tromboxano A₂ (vasoconstrictor) y disminución de prostaciclina (vasodilatador).

2.6.3.1. ENFERMEDAD CORONARIA.

El infarto agudo al miocardio es la principal causa de mortalidad en americanos diabéticos. Los estudios realizados indican que la prevalencia del infarto agudo al miocardio se relaciona fuertemente con (78): hipertensión, albuminuria, porcentaje de grasa corporal (34), fumar, hiperinsulinemia, bajas concentraciones de colesterol de las HDL y aterosclerosis.

2.6.3.2. ENFERMEDAD VASCULAR CEREBRAL.

La isquemia cerebral está influenciada por la diabetes en un número diferente de formas. La diabetes causa y exacerba las microangiopatías, incrementa la severidad de la isquemia cerebral e incrementa la mortalidad por ataques isquémicos. Desafortunadamente pocos estudios han examinado con suficiente profundidad la influencia de la diabetes sobre las lesiones vasculares que provocan la isquemia. Estas causas pueden dividirse en :

1. De origen cardíaco-embolia cerebral.
2. Aterosclerosis de la aorta y arterias largas extracraneales -arteria carotida interna y arteria vertebral.
3. Aterosclerosis de las arterias intracraneales -arterias anterior, media y posterior cerebral-, la arteria cerebral y la arteria basilar.
4. Enfermedad ateromatosa intracraneal de las ramas de las arterias mencionadas en el punto tres.

5. Anormalidades degenerativas tales como lipohialinosis y cambios fibrinoides en ramas de las arterias, visibles solo microscópicamente. Los tres últimos tipos de desordenes pueden causar un rápido infarto cerebral subcortical (18).

2.6.3.3. ENFERMEDAD VASCULAR PERIFÉRICA.

Más del 50% de las amputaciones no traumáticas se realizan en diabéticos y más de la mitad de éstas se pueden evitar. Las lesiones en el pie son resultado de neuropatía y enfermedad vascular periférica, con infección sobreañadida. Las lesiones se inician en pies insensibles, deformados o isquémicos, éstos son susceptibles de traumatismos que llevan a la ulceración, infección y gangrena.

Las úlceras neuropáticas aparecen en zonas de mayor presión (talón y salientes oseas), formando el mal perforante plantar y son indoloras.

Las úlceras isquémicas se presentan en los pies deformados y pueden acompañarse de alteraciones de la mecánica de los mismos, con puntos de apoyo anormales, con sensibilidad disminuida y por tanto, con sitios de traumatismo repetido que pueden infectarse secundariamente y cicatrizar defectuosamente por el traumatismo continuo y por deficiencia de riego sanguíneo.

La infección en los pies de los diabéticos puede aparecer fácilmente cuando se produce una lesión en la piel y con ello se rompe la barrera entre el medio y los tejidos profundos. En diabéticos bien controlados, la evolución de la infección no parece diferente que en no diabéticos; sin embargo, en pacientes descontrolados hay señales de deficiencia de inmunidad celular. Además se ha demostrado un aumento de gérmenes en la superficie cutánea de los diabéticos.

En algunos casos la infección es tan grave que tiene consecuencias sistémicas y deben llevarse a cabo amputaciones de urgencia de la extremidad afectada, para permitir un drenaje adecuado; además se administran antibióticos parenterales y en un segundo tiempo se llevan a cabo amputaciones definitivas, cuando la infección se ha controlado y se ha reducido el riesgo de infección de la herida quirúrgica (94). En la figura II.17. se describen los mecanismos evolutivos que llevan frecuentemente a la amputación de miembros inferiores.

2.6.4. OTRAS COMPLICACIONES.

2.6.4.1. COMPLICACIONES BUCALES.

El paciente diabético al tener una microangiopatía generalizada tiene consecuencias sobre las encías y periodonto, ocasionando una disminución en la resistencia a la infección y al trauma; observándose en el paciente no controlado o inestable un retraso en la capacidad para cicatrizar heridas traumáticas o quirúrgicas, que aunado a una disminución del fluido salival, favorece la acumulación y retención de alimentos, restos, placa dentobacteriana y cálculos; disminuye la autolimpieza bucal y, facilita la inducción o agravación de una inflamación gingival, que en la etapa inicial produce una ligera deformación de los márgenes gingivales o de los tejidos interdentes, con brillo y pérdida del punteado.

La presión sobre los tejidos blandos por palpación, exploración con sonda periodontal, masticación de alimentos o cepillado dental, puede producir un exudado hemorrágico o seroso, y con la inflamación se presenta un cambio en la coloración de la encía del tinte rosado a azul rosado o en algunos casos a roja. La

encia inflamada es tumefacta y abultada en los bordes libres y la papila gingival, la cual puede perder los espacios interproximales.

Si una vez que se ha presentado esta patología se deja evolucionar, se produce un daño mayor, con mayor profundidad en las encías y tejidos de sostén del diente (periodonto). Clínicamente en este momento se detecta la presencia del cálculo y en especial el subgingival se visualiza con facilidad separando la encía marginal del diente mediante un chorro de aire comprimido. Cuando la periodontitis se agrava, los dientes adquieren movilidad; en ocasiones es posible expulsar material supurativo y otros residuos de la bolsa adyacente al diente mediante presión leve de la encía. Una vez que se llega a este punto, el paciente es incapaz de controlar su periodontitis, lo que requerirá una profilaxia cuidadosa por parte del odontólogo para limitar el daño, sin embargo como el daño no es reversible, es imposible detener la pérdida de hueso alveolar y con ello la pérdida de piezas dentales sanas (84)

2.6.4.2. INFECCIONES.

Los factores que predisponen al paciente diabético a múltiples infecciones son los siguientes (2):

- ◇ Nivel de glucosa en piel y saliva. Se han encontrado valores elevados de glucosa en piel de pacientes diabéticos aún cuando tienen una glucemia normal en ayunas. Se ha observado que el nivel de glucosa en saliva de pacientes diabéticos también es elevado, lo cual estimula el desarrollo de microorganismos capaces de producir infección bucal.

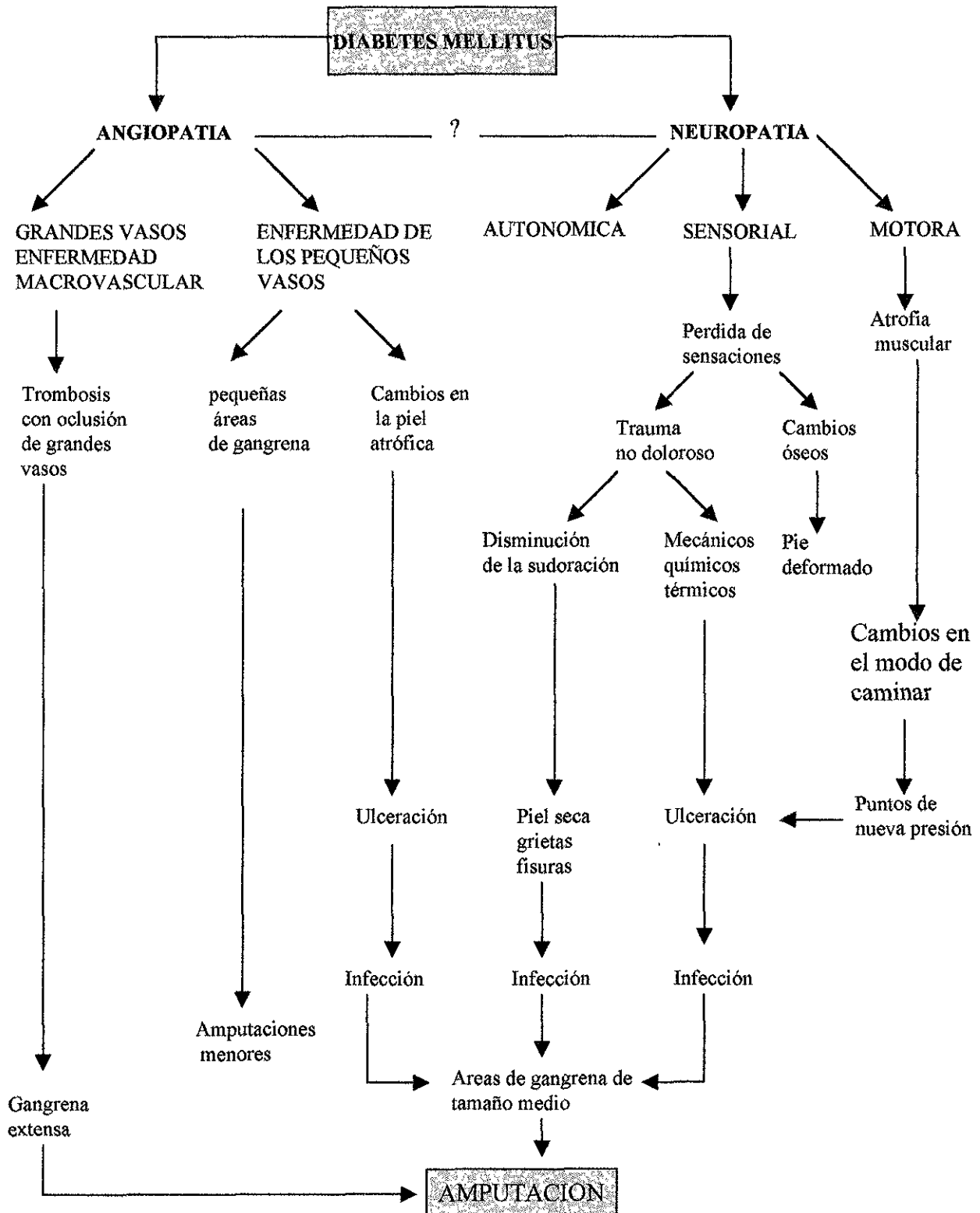


Figura II.17. Patomecanismos evolutivos que llevan a la amputación

- ◇ Cetoacidosis. Al parecer el desarrollo de los hongos se ve favorecido por el medio rico en glucosa y el pH bajo que impera en éste tipo de complicación aguda, además de que se ha reportado una disminución en la actividad inhibitoria del suero sobre el desarrollo de hongos.
- ◇ Función de los leucocitos. Los leucocitos de pacientes diabéticos con o sin cetoacidosis, presentan un decremento tanto en la quimiotaxis como en la fagocitosis, ambos procesos energéticos-dependientes. El defecto es revertido con terapia de insulina.
- ◇ Factores locales. La insuficiencia vascular, debida a lesiones degenerativas en vasos sanguíneos de pequeño y mediano calibre, influye en los mecanismos de defensa del paciente diabético ya que disminuye el flujo de sangre a los tejidos periféricos y disminuye la concentración de oxígeno en los tejidos favoreciendo de este modo, el crecimiento de microorganismos microaerófilos y anaeróbicos.
- ◇ Neuropatía. La neuropatía sensitiva contribuye al desarrollo de úlceras neuropáticas, sobre todo en áreas sujetas a traumas y presiones y en especial, bajo los dedos de los pies, en el talón y en zonas de fricción y callosidades con tratamiento inadecuado, pudiendo desembocar en una infección.

2.6.4.2.1. MUCORMICOSIS.

La mucormicosis es una micosis oportunista, causada por una familia de hongos mucorales, las tres especies más frecuentes causantes de patologías son: *Rhizopus*, *Mucor* y *Absidia*, que son hongos anemófilos (del aire), que regularmente afectan a pacientes diabéticos cetoacidóticos (en un 85%) generando un cuadro clínico agudo. La enfermedad por lo regular inicia a través de senos paranasales y paladar, generando un cuadro rínoencefal y en ocasiones pulmonar, ambos de mal pronóstico, por lo que es indispensable un diagnóstico integral rápido (13).

2.6.4.2.2. CANDIDOSIS.

Las candidosis son un grupo de micosis ocasionadas por levadura del género *Candida*, pueden ser superficiales o profundas y afectar piel, mucosas, anexos o cualquier órgano (5).

Hay una resistencia natural a la infección, pero se presenta con frecuencia en inmunodeprimidos, ante alteraciones fisiológicas, factores locales, consumo de medicamentos, endocrinopatías y enfermedades metabólicas entre las que juega un papel preponderante la diabetes (5).

3.0. DIAGNÓSTICO Y SEGUIMIENTO DE LABORATORIO DE LA DIABETES MELLITUS.

A continuación se presentan los criterios para el diagnóstico de la *Diabetes mellitus* y síndrome de intolerancia a la glucosa (86).

1) NORMAL

- ◇ Concentración de glucosa plasmática en ayuno menor a 115 mg/dL .
- ◇ Concentración de glucosa plasmática al azar menor a 200 mg/dL
- ◇ Prueba oral de tolerancia a la glucosa. Después de una carga oral de 75 g de glucosa, los valores son los siguientes:

1. El valor de glucosa en ayuno es menor a 115 mg/dL
2. Después de la carga de glucosa a los 30, 60 y 90 minutos la concentración de glucosa es menor a 200 mg/dL, a los 120 minutos la concentración de glucosa es menor o igual a 140 mg/dL.

2) DIABETES EN ADULTOS Y MUJERES NO EMBARAZADAS.

- * Concentración de glucosa plasmática al azar mayor o igual a 200 mg/dL, además de los síntomas de hiperglucemia, como son poliuria, polidipsia y pérdida de peso.
- * Concentración de glucosa plasmática en ayuno mayor o igual a 140 mg/dL al menos en dos ocasiones.
- * Concentración de glucosa plasmática en ayuno menor a 140 mg/dL y después de una carga oral de 75 g de glucosa se obtienen concentraciones de glucosa a los 30, 60, 90 y 120 minutos mayores a 200 mg/dL.

3) ALTERACIONES DE LA TOLERANCIA A LA GLUCOSA.

⇒ *Concentración de glucosa plasmática en ayuno menor a 140 mg/dL*

⇒ Después de una carga oral de 75 g de glucosa, a los 30, 60 y 90 minutos la concentración de glucosa es mayor o igual a 200 mg/dL y a los 120 minutos es menor a 200 mg/dL

4) DIABETES MELLITUS GESTACIONAL

◆ Después de una carga oral de 100 g de glucosa se obtienen las siguientes concentraciones de glucosa:

- * ayuno 105 mg/dL
- * 60 min. 190 mg/dL
- * 120 min. 165 mg/dL
- * 180 min. 145 mg/dL

Tanto el diagnóstico de diabetes como el monitoreo de su control metabólico dependen principalmente de los ensayos para determinar la concentración de glucosa, a continuación se presentan las pruebas de laboratorio más importantes para el diagnóstico y monitoreo tanto de la diabetes tipo I como la de tipo II.

3.1. GLUCOSA PLASMÁTICA EN AYUNAS.

Los individuos que no padecen la D.M. mantienen una concentración de glucosa plasmática tras ayuno de 10 a 16 horas de 80 a 90 mg/dL, aunque los valores tienden a aumentar con la edad (86). El National Diabetes Data Group

propone que una concentración mayor a 140 mg/dL en más de una ocasión constituye diagnóstico de diabetes (86).

En los pacientes con manifestaciones clínicas obvias de diabetes, como rápida pérdida de peso, poliuria, polidipsia y cetonuria, debe analizarse de inmediato la glucemia en ayunas.

3.1.1. MÉTODOS ANALÍTICOS.

Los métodos analíticos para determinar glucosa plasmática se clasifican en químicos y en enzimáticos. Las determinaciones químicas ya no se usan por su falta de especificidad y complicación, pero se describen brevemente.

3.1.1.1 MÉTODOS QUÍMICOS.

1.- Oxido-reducción. Se basa en el hecho de que en solución alcalina caliente, la glucosa reduce los iones cúpricos (Cu^{++}) a iones cuprosos (Cu^{+}). Sin embargo este método no es específico ya que otras sustancias diferentes a la glucosa, también reducen los iones cúpricos como son: la fructosa, manosa, ácido úrico, ácido ascórbico y creatinina.

2.- O-Toluidina. Este método es el más específico de los métodos químicos, sin embargo constituye un riesgo para la salud porque la o-toluidina se clasifica actualmente como carcinógeno. La o-toluidina es una amina aromática que se condensa con el grupo aldehído de las aldohexosas como glucosa, en solución de ácido acético caliente y forma una mezcla en equilibrio de una glucosamina y la base de Schiff correspondiente. Se llevan a cabo otros reordenamientos para producir un cromógeno de color verde, cuya absorbencia se mide a 630 nm. En

este método interfiere la bilirrubina, la lipemia, el fluoruro de sodio, el EDTA y la galactosa.

3.1.1.2. MÉTODOS ENZIMÁTICOS.

Los métodos enzimáticos miden la glucosa real y no compuestos reductores, son métodos muy sencillos, rápidos, específicos y que requieren un volumen pequeño de muestra. Se considera que estos métodos tienen un 100 % de especificidad, sin embargo, la sensibilidad es muy variable (79). Los dos métodos más utilizados son (4):

1.- Hexocinasa. La hexocinasa (HK) cataliza la fosforilación de la glucosa por el trifosfato de adenosina (ATP) para formar glucosa-6-fosfato (G6P) y difosfato de adenosina (ADP). Una segunda enzima, la deshidrogenasa de glucosa-6-fosfato, cataliza la oxidación de glucosa-6-fosfato por el dinucleótido de nicotinamida-adenina-fosfatada (NADP⁺) para formar NADPH. El aumento de la absorbencia del NADPH se mide a 340 nm, el cual es directamente proporcional a la concentración en la muestra. La principal interferencia en éste método es la hemólisis.

2.- Glucosa oxidasa. La enzima glucoxidasa cataliza la oxidación de glucosa a gluco lactona y peróxido de hidrogeno (H₂O₂); el H₂O₂ formado, reacciona en presencia de la peroxidasa (POD) con 4-aminoantipirina y 2,4-diclorofenol. Por copulación oxidante se forma antipirilquinonimina que es de color rojo y se mide a 510 nm. La cantidad de compuesto colorido formado es proporcional a la concentración de glucosa. Este método se utiliza ampliamente por su bajo costo y además se ha automatizado.

3.1.2. PRECAUCIONES.

La importancia de la obtención de una buena muestra de sangre para el análisis no debe ser subestimada. A temperatura ambiente, la glucosa presente en un tubo con una muestra de sangre se metaboliza aproximadamente 7 mg/dL/h (0.39 mmol/L/h). A 4°C, la tasa de metabolización de la misma es de más o menos 2 mg/dL/h . La glucosa se metaboliza aún con mayor rapidez en las muestras de sangre extraídas en pacientes con leucocitosis/leucemia. Dicha pérdida metabólica de glucosa puede prevenirse separando con rapidez (antes de ½ h) el suero de los eritrocitos o bien usando tubos de recolección de muestras con flúor.

Se debe considerar si el análisis se realizará en sangre entera, en suero o en plasma, ya que los niveles de glucosa en suero o plasma son más altos (10 a 15%) que en sangre entera (79).

No debe realizarse el análisis en los pacientes con enfermedad aguda, ya que las enfermedades agudas pueden alterar las cifras de glucemia y producir la aparición de resultados equívocos (28).

3.1.3. INTERPRETACIÓN.

En los pacientes con signos subclínicos de diabetes (79,81). como infecciones inhabituales, deterioro de la visión o enfermedad periodontal, debe analizarse la glucemia en ayunas.

El hallazgo de una cifra de glucemia en ayunas superior a los 140 mg/dL apoya el diagnóstico de diabetes y obvia la necesidad de realizar una prueba de tolerancia oral a la glucosa. Para hacer el diagnóstico real es preciso hallar una segunda cifra de glucemia superior a los 140 mg/dL. En cambio, cifras de glucemia

en ayuna inferiores a 140 mg/dL pero superiores a 115 mg/dL no excluyen el diagnóstico de la enfermedad, pues ésta no es tan sensible en la demostración de la diabetes como la prueba de tolerancia oral a la glucosa. El hallazgo de cifras de glucemia en ayunas inferiores a 115 mg/dL descarta el diagnóstico de diabetes. (28, 79, 81).

3.2. GLUCOSA EN ORINA.

La glucosa es una de las sustancias con umbral renal, es decir, que resulta totalmente reabsorbida por los túbulos cuando su concentración sanguínea se halla dentro de los límites de referencia (6). El umbral renal varía de uno a otro individuo, pero en general los valores inferiores son de 160 a 180 mg/dL, lo que impide la valoración de niveles de glucosa sanguínea inferiores. Debido a lo anterior su uso en clínica es reducido.

En la diabetes aparece glucosa en orina cuando el nivel de glucosa sanguínea excede el umbral renal de glucosa. La velocidad de filtración de la glucosa a través del glomérulo, bajo condiciones estables, es una función lineal de su concentración plasmática. El mecanismo tubular de reabsorción de la glucosa guarda todas las características de un transporte activo. La velocidad de reabsorción de la glucosa en hombres y mujeres alcanza aproximadamente 375 y 303 mg/min./1.73 m² de superficie corporal, respectivamente (6).

3.2.1. MÉTODOS ANALÍTICOS.

La glucosa se determina en orina cualitativamente (o semicuantitativamente), cuantitativamente o por ambos métodos (6, 79).

1. Determinación cualitativa. Se utiliza la técnica de tiras reactivas que son comercializadas por distintas firmas. En el caso de las tiras Multistix de la firma Ames, la zona específica para la investigación de glucosa se encuentra impregnada con glucosaoxidasa (GOD) y peroxidasa (POD), que reacciona con la glucosa de la orina dando a los 60 segundos una variedad de colores que van del verde al marrón, según la concentración de glucosa (6).

2. Determinación cuantitativa. La cuantificación se realiza por el método de glucosaoxidasa, la técnica y el fundamento es el mismo que para la glucosa plasmática. Se utiliza orina fresca o conservada con fluoruro de sodio. Debe emplearse cuando la prueba cualitativa sea positiva. Por lo general la orina se diluye 1/10 (6).

3.2.2. PRECAUCIONES.

La orina debe analizarse con rapidez para determinar su contenido de glucosa ya que con frecuencia contiene bacterias u otros constituyentes celulares que llevan a cabo la glucólisis. La glucosa se preserva en una muestra de orina de 24 horas añadiendo ácido acético glacial o benzoato de sodio al recipiente antes de comenzar la recolección (79).

3.2.3. INTERPRETACIÓN.

La glucosuria es generalmente una prueba de diagnóstico inadecuada, debido a que en ayuno la glucosuria es insensible (17%) aunque específica (98%) y después de una carga de carbohidratos la glucosuria es solamente sensible y específica moderadamente (ambos intervalos de 70% a 80%). Esto es

indudablemente útil en pacientes en quienes la hiperglucemia está produciendo poliuria, pero hasta en estos casos la prueba de glucosa en sangre se necesita para la confirmación.

Aunque los ensayos de glucosa en orina han jugado un importante papel en la historia de la diabetes ("mellitus" refiriéndose al sabor dulce de la orina diabética), su papel clínico se ha reducido con el incremento en el uso del automonitoreo de glucosa en sangre. A pesar de la exactitud de los sistemas modernos semicuantitativos de glucosa oxidasa, la prueba de glucosa en orina solo proporciona un indirecto y engañoso valor de glucosa. Las razones para esta pobre correlación incluyen los siguientes puntos:

- ◇ El umbral renal para la glucosa en adultos y mujeres no embarazadas generalmente empieza a los 160-180 mg/dL, evitando valoramientos de niveles de glucosa en sangre más bajos.
- ◇ El umbral renal varía entre diferentes pacientes y también en el mismo paciente a través del tiempo.
- ◇ Las concentraciones de glucosa en orina son necesariamente un valor promedio por arriba del período en que la orina se acumula en la vejiga. Una cuidadosa medida del tiempo o especímenes duplicados pueden reducir este problema en cierto modo, pero estas muestras son difíciles de obtener. Además, en la Diabetes la disfunción autonómica llevan a hipotonía en la vejiga y produce una mezcla persistente de orina de reciente formación y de orina estancada. Aunque los ensayos de glucosa en orina pueden directamente valorar la glucosuria y proveer una cuantificación de la excreción diaria de glucosa, la glucosuria es la mejor medida semicuantitativa de glucosa en sangre (79).

Como prueba de automonitoreo para los pacientes con diabetes tipo I, la prueba de glucosa en orina es inferior que el automonitoreo de glucosa en sangre y debe ser usada solamente donde las pruebas frecuentes de glucosa en sangre

no son posibles. La mayoría de los patrones glucémicos estables de los pacientes con diabetes tipo II hacen de la prueba de glucosa en orina un suplemento para la determinación de glucosa en suero con ayuno y de la hemoglobina glucosilada, es una estrategia razonable de monitoreo para disminuir la intensidad del régimen hipoglucémico (79).

3.3. GLUCOSA POSPANDRIAL DE DOS HORAS.

En ayuno se toma una muestra basal de sangre y se determina la concentración de glucosa. Posteriormente se administra una carga de glucosa oral estándar (el National Diabetes Data Group recomienda 75 g) y se determina la concentración de glucosa plasmática dos horas después. El nivel de glucosa plasmática superior a 200 mg/dL indica diabetes; los valores menores a 140 mg/dL se consideran normales (79).

3.4. PRUEBA DE TOLERANCIA ORAL A LA GLUCOSA.

La prueba de tolerancia oral a la glucosa se utiliza para comprobar definitivamente el diagnóstico de diabetes en pacientes que tienen niveles de glucosa plasmática en ayunas entre 115-140 mg/dL y en la glucosa pospandrial también se obtienen valores intermedios entre 140 y 200 mg/dL. Consiste en la medición en serie de la glucosa plasmática antes y después de ingestión oral de glucosa.

3.4.1. MÉTODO.

El siguiente procedimiento es el recomendado por la American Diabetes Association (4, 79) y con una modificación en la dosis de glucosa, también por el National Diabetes Data Group para estandarizar la prueba de tolerancia a la glucosa:

- 1) El paciente puede tener actividad física sin limitaciones e ingerir una dieta sin restricciones que contenga por lo menos 150 g de carbohidratos durante tres días antes de realizar la prueba.
- 2) La prueba se efectúa en la mañana después de que el paciente ayunó de 10 a 16 horas; sólo se le permite que ingiera agua.
- 3) Se obtiene una muestra para determinar glucosa en ayunas.
- 4) Se disuelve una dosis de 75 g en agua, se administra por vía oral y debe ingerirse en cinco minutos.
- 5) La glucosa plasmática se determina cada 30 minutos durante dos horas.

3.4. 2. PRECAUCIONES.

Se sabe que los siguientes fármacos y sustancias químicas alteran los resultados de la prueba de tolerancia a la glucosa:

Diuréticos y antihipertensivos.

Clortalidona

Clonidina

Diazóxido

Furosemida

Tiacidas

Catecolaminas y otras sustancias neurológicamente activas.

Adrenalina

Isoproterenol

Levodopa

Noradrenalina

Fenitoína

Hormonas activas

Corticotropina

Glucagón

Glucocorticoides

Anticonceptivos orales

Somatotropina

Hormonas tiroideas

Psicofármacos

Clorprotixeno

Haloperidol

Carbonato de litio

Fenotiacinas

Antidepresivos tricíclicos

Analgésicos, antipiréticos, antiinflamatorios y antineoplásicos.

Aloxán

L-asparaginasa

Esteptozocina

Otros agentes

Encainida

Isoniacida

Acido nicotínico

3.4. 3. INTERPRETACIÓN.

En el paciente sin Diabetes Mellitus el nivel de glucosa se eleva aproximadamente a 150 mg/dL o aún más de 30 a 60 minutos después de la administración de glucosa y después se reduce a medida que la secreción de insulina se estimula por el incremento de glucosa plasmática. El nivel de glucosa tiende a descender levemente por debajo de los niveles en ayunas antes de que el efecto del aumento del nivel de insulina desaparezca y después regresa a la normalidad en aproximadamente tres horas. En un paciente diabético los niveles de glucosa comienzan siendo altos y se elevan aún más que en el individuo normal, porque el paciente diabético tiene suministro insuficiente de insulina y por lo tanto es incapaz de utilizar en forma eficiente la glucosa que se le administra.

Los niveles permanecen altos por un periodo más prolongado que en el individuo normal antes de regresar lentamente al nivel inicial. De acuerdo al National Diabetes Data Group (79), un nivel de glucosa plasmática igual o mayor a 200 mg/dL tanto en la prueba de dos horas y en alguna otra prueba tomada en el lapso de 0 a 2 horas constituye diagnóstico de diabetes. Se diagnosticará de "intolerancia a la glucosa" a todo sujeto adulto o mujer no embarazada cuya glucemia basal sea inferior a 140 mg/dL y cuya glucosa en sangre a las dos horas de la prueba sea igual o superior a 140 mg/dL e inferior a 200 mg/dL.

Si el diagnóstico de intolerancia a la glucosa se confirma tras realizar la prueba de tolerancia oral a la glucosa, se debe reexaminar al paciente una vez al año, ya que los pacientes con intolerancia a la glucosa pueden desarrollar una diabetes franca (a una tasa de 1%-5% al año), normalizar su tolerancia o bien permanecer en el grupo intermedio. Los sujetos con intolerancia a la glucosa, rara vez presentan enfermedad microvascular clínicamente significativa.

3.5. HEMOGLOBINA GLUCOSILADA.

3.5.1. HEMOGLOBINA.

3.5.1.1. BIOSÍNTESIS DE LA HEMOGLOBINA.

La síntesis de la hemoglobina ocurre en el sistema retículo endotelial sobre todo en la médula ósea y bazo. La mayor parte de la síntesis se lleva a cabo en los proeritroblastos y eritroblastos; cuando estas células maduran a reticulocitos, la síntesis de hemoglobina se reduce. Los eritrocitos humanos maduros ya no poseen capacidad de sintetizar hemoglobina.

La síntesis se inicia cuando el ácido succínico se condensa con la glicina para formar el ácido δ -aminolevulínico (ALA), esta condensación requiere de fosfato de piridoxal; la reacción es catalizada por la enzima mitocondrial ALA-sintetasa (δ -aminolevulinato sintetasa). Dos moléculas de ALA se condensan para formar el monopirrol, porfobilinógeno (PBG) catalizado por la enzima ALA-deshidrogenasa. El cierre del anillo da origen al uroporfobilinógeno III, un pirrol sustituido que es el primer precursor cíclico de la estructura de las porfirinas. La estructura porfirínica procede de la unión de cuatro moléculas de PBG a través de puentes de carbono simples. Las cuatro moléculas de PBG se unen estrechamente a una enzima citoplasmática, la uroporfirinógeno sintasa, que es, por sí sola, relativamente inactiva y requiere una segunda proteína llamada cosintasa, para poder catalizar la formación de uroporfirinógeno III (UPG III). El UPG III se convierte en coproporfirinógeno III a través de una secuencia de descarboxilaciones; adicional a esto hay otras descarboxilaciones y oxidaciones que convierten el coproporfirinógeno III en protoporfirina IX. La conversión de protoporfirina IX en protohemo IX es catalizada por la enzima mitocondrial ferroquelatasa que origina la inserción de un átomo de hierro en la cavidad central del anillo de porfirina, para formar la molécula de Hem completa (67) .

La síntesis de la globina se produce en el citoplasma de los eritroblastos y de los reticulócitos, por el mecanismo de la síntesis proteica, las cadenas de polipéptidos se originan en los ribosomas situados en el citoplasma de células jóvenes de la serie eritroide.

Las 4 cadenas de la globina son dos pares idénticos de cadenas de aminoácidos, dos cadenas alfa y dos cadenas beta conteniendo un total de 576 aminoácidos formando así una molécula tetramérica.

La hemoglobina es un conjugado compuesto de 4 grupos Hemo, unidos a una proteína, que es la globina formada por cuatro cadenas polipeptídicas (45). Ver Fig. III.1.

3.5.1.2. CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES.

La molécula de hemoglobina es la principal proteína transportadora de oxígeno en el cuerpo (45). La molécula de hemoglobina se encuentra en el eritrocito, el cual tiene una vida media de 60 días. La hemoglobina se encuentra a una concentración de 5 mM y tiene un peso molecular de aproximadamente 64 000 daltons. Conociendo la concentración habitual de la hemoglobina, la vida media de los eritrocitos circulantes, el peso corporal y el volumen sanguíneo, se puede calcular que la proporción diaria de hemoglobina es de 5-6 g (67).

En los individuos normales se encuentran generalmente tres tipos distintos de hemoglobina y son:

Hb Ao.- Es la más importante de las hemoglobinas del adulto normal, la parte globínica de la molécula es de dos tipos: dos cadenas alfa iguales con 141 aminoácidos y dos cadenas beta con 147 aminoácidos cada una. Cada cadena está unida a un grupo Hem, la molécula es elipsoidal y los 4 Hem se encuentran en su superficie donde cumplen sus funciones de combinarse con el oxígeno o con el dióxido de carbono.

Hb A₁.- En su conjunto, las moléculas con modificaciones pos-sintéticas del grupo N-aminoterminal se nombran Hb A₁ o hemoglobina rápida, pues eluyen rápidamente y preceden al pico de Hb Ao.

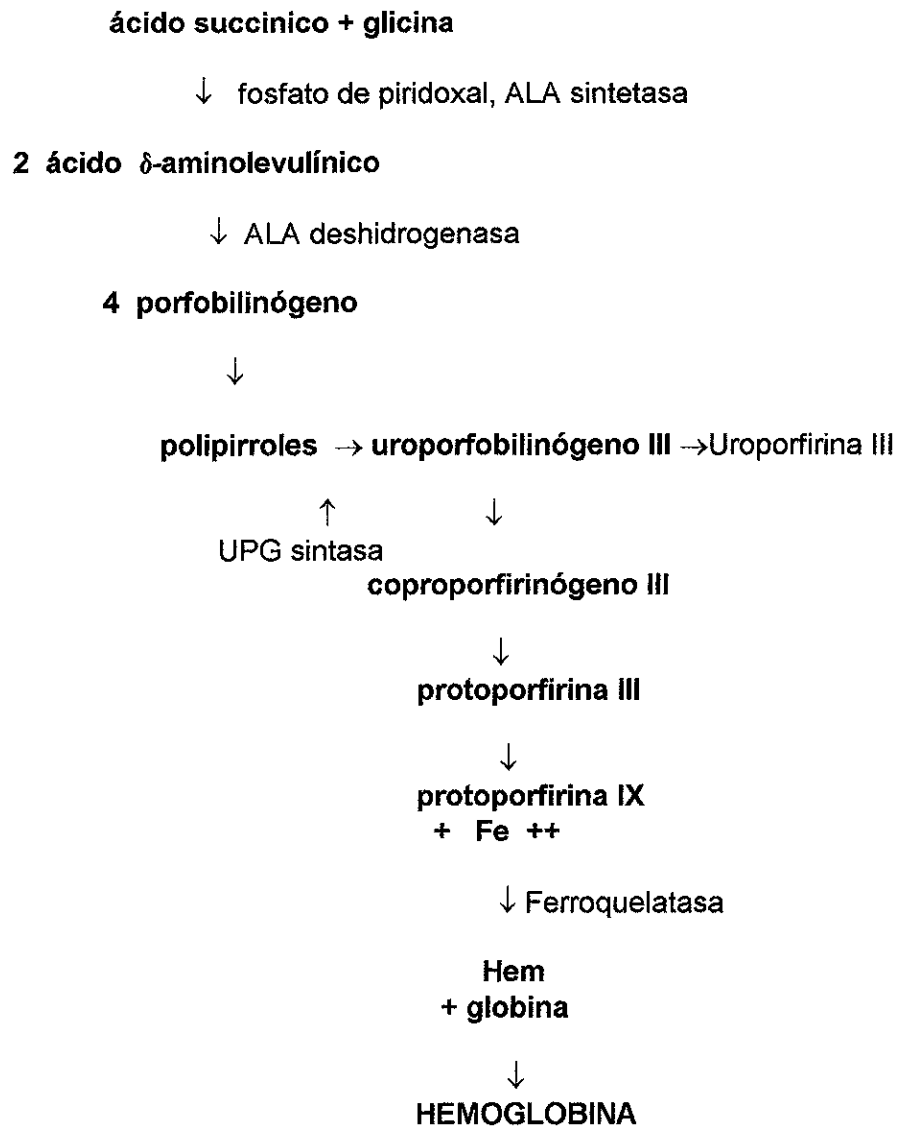


Figura III.1. Síntesis de la Hemoglobina.

Hb A₂.- Esta hemoglobina posee dos cadenas alfa y dos cadenas delta, estas últimas difieren en cuanto su secuencia de aminoácido a las cadenas beta de la hemoglobina A₁.

Hb Fetal.- Es la hemoglobina principal del feto y del recién nacido, presenta dos cadenas alfa y 2 cadenas gama, con 146 aminoácidos en estas últimas. Esta hemoglobina retiene el oxígeno con más afinidad para facilitar su transporte de la madre al feto.

Las proporciones de estas hemoglobinas en individuos normales son (72) :

* Hb A_o 96-98 %.

* Hb A₂ 1.5-3.5 %.

* Hb F 0.2 %.

3.5.2. FORMACIÓN Y FRACCIONES RESULTANTES.

El término de hemoglobina glucosilada se refiere a la serie de componentes menores de la hemoglobina que se forman por unión de un azúcar a la hemoglobina. Esta reacción no es enzimática (67) sino que se trata de una reacción cinética de primer orden, dependiente de la concentración de glucosa dentro del eritrocito y a lo largo de su vida. Por lo que los niveles de hemoglobina glucosilada están incrementados en los eritrocitos viejos. La glucosilación es lenta, continua e irreversible. La Hb A₁ se forma en el eritrocito por la reacción de la glucosa u otro azúcar con la Hb A_o (67, 29).

En los pacientes con diabetes el grupo aldehído (CHO) de la glucosa se une al grupo amino (NH₂) de la valina, a una o a ambas cadenas betas de la Hb A₀. La glucosilación es una serie de modificaciones conocidas de postraducción que afectan a las proteínas. Consta de 2 pasos, el primero es la formación de una base de Schiff. El segundo es la transformación por medio del rearreglo de Amadori en una cetoamina estable.

Los pasos de la glucosilación, las características que determinan la velocidad y la extensión de la glucosilación fueron explicadas ampliamente en la sección 2.6.1.1.

Como es bien conocido, más del 90 % de la hemoglobina que se encuentra en los eritrocitos humanos, está formada por la hemoglobina A₀. El 10 % restante está constituido por compuestos resultantes de modificaciones pos-sintéticas de la hemoglobina (Hb A₀), por adición de pequeñas moléculas.

En su conjunto, las moléculas con modificaciones pos-sintéticas del grupo N-aminoterminal se nombran Hb A₁ o hemoglobina rápida, pues eluyen rápidamente y preceden al pico de Hb A₀ a pH débilmente ácido en columnas de intercambio catiónico. La molécula Hb A₁, puede unirse a diferentes carbohidratos, formando subfracciones, de las cuales la más importante es la Hb A_{1c}. Las subfracciones son:

Hb A_{1a1} = Hb + fructosa 1,6-difosfato (valina de la cadena β).

Hb A_{1a2} = Hb + glucosa 6-fosfato (valina de la cadena β).

Hb A_{1ab} = Hb + producto desconocido (producto de desaminación?).

Hb A_{1c} = Hb + glucosa (valina de la cadena β).

Hb A_{1d3} = Hb + glucosa (lisina de la cadena β).

De las subfracciones anteriores la más importante es la Hb A1c que representa de 4 al 6 % de la hemoglobina total (67). Por lo que, la secuencia de aminoácidos de la Hb A1c es idéntica a la de la Hb Ao , pero el grupo alfa amino terminal de la cadena beta está bloqueado por un residuo de glucosa (8). No se conocen con seguridad las alteraciones metabólicas de la HbA1c, aunque parece ser que se une al oxígeno con más afinidad y por lo tanto, lo libera menos a los tejidos y además la glucosilación impide la fijación del 2,3 DFG (difosfoglicerato) a la cadena beta de la hemoglobina (ver sección 2.6.1.1.3.).

3.5.3. MÉTODOS DE CUANTIFICACIÓN.

En la actualidad existen diversos métodos para determinar la hemoglobina glucosilada y la validez de la medición depende en parte del método que se emplee. Sin embargo, la determinación de la hemoglobina glucosilada es un método importante para valorar la glucemia y es más conveniente que la prueba oral de tolerancia a la glucosa porque sólo se requiere una muestra de sangre y el paciente no necesita preparación. Además mide el control glucémico en condiciones normales de la vida. Se ha demostrado que las determinaciones regulares de Hb A_{1c} conducen a cambios en el tratamiento de diabetes y a un mejor control metabólico como indica el descenso de los valores de Hb A_{1c} .

Se han desarrollado un gran número de técnicas para medir la hemoglobina glucosilada. Por facilidad se han agrupado por el mecanismo que usan al separar la hemoglobina glucosilada de la que no está glucosilada (4).

3.5.3.1 EN BASE A DIFERENCIAS DE CARGAS.

La glucosilación del grupo amino-terminal de valina ocasiona un cambio en el punto isoeléctrico de la hemoglobina. Esta reacción es la base de los métodos para la separación de las especies glucosiladas y las que no lo están. Estos son: la cromatografía de intercambio iónico, la electroforesis y el punto isoeléctrico.

3.5.3.1.1. CROMATOGRAFÍA DE INTERCAMBIO IÓNICO.

Historicamente la cromatografía de intercambio iónico fue el primer método usado para la separación y cuantificación de la hemoglobina glucosilada. Este es el método más ampliamente usado en los laboratorios clínicos de todo el mundo. El fundamento del método es en base a que varias especies de hemoglobinas glucosiladas, incluyendo la Hb A_{1c}, son menos positivas que la Hb A₀, a un pH neutro (58) y se unen menos a la resina con carga eléctrica negativa, por lo que se desplazan con el amortiguador catiónico débil (50 mM Na⁺). La fracción no glucosilada es desplazada cuando se usa una concentración alta de sales (300 mM). El hemolizado se aplica a la columna de resina y se colecta el eluido. La menor carga positiva de los componentes menores de la hemoglobina hacen que eluya primero la Hb A_{1a}, A_{1b} y A_{1c}, antes de la fracción mayor de la hemoglobina, la Hb A₀. El porcentaje total de hemoglobina puede ser fácilmente determinado con un espectrofotómetro. La elución más rápida de la hemoglobina bajo estas condiciones da la razón para llamarlas “ hemoglobinas rápidas” para las fracciones correspondientes a las hemoglobinas A_{1a}, A_{1b} y A_{1c}. La cuantificación espectrofotométrica de las fracciones de la hemoglobina es a 415 nm. Algunos procedimientos solo separan los componentes menores de la hemoglobina, por

este medio se cuantifica la Hb A_{1c} separando la Hb A₁ (Hb A_{1a+b+c}) de la Hb A₀ (29, 37).

Para éste método existen numerosos equipos comerciales. La técnica consiste en hemolizar la sangre anticoagulada y se coloca en las columnas de resina de intercambio iónico, para eluir la Hb A₁ con el primer amortiguador y la Hb A₀ con un segundo amortiguador (58, 29).

Con el reconocimiento de la importancia clínica de la técnica de la hemoglobina glucosilada se han desarrollado modificaciones del método original de la macro-columna, permitiendo una separación más rápida y conveniente. El método de microcolumna proporcionado comercialmente desarrollo el uso de la resina Birex 70 y la elución con dos amortiguadores para separar la hemoglobina glucosilada de la Hb A₀. El menor tamaño (1 x 2.5 cm) de la columna nos proporciona resolución de las fracciones glucosiladas, las cuales fueron eluidas como Hb A₁. La técnica requiere 60 minutos y es extremadamente sensible a cualquier cambio en el pH del amortiguador o de la temperatura (37,79). Otras serie de interferencias son (45): presencia de hemoglobina fetal y de variantes de hemoglobinas, presencia de hemoglobina carbamilada (presente en pacientes urémicos, así como la acetilada), y la presencia de la fracción lábil (forma aldimina de la glucosa). En la macro-columna la temperatura óptima es de 20 °C; al aumentar la temperatura se elevan los valores de los resultados. En la microcolumna los efectos de la temperatura corresponden al 1% de la Hb A₁ por cada °C, necesitando un riguroso control de la temperatura (79).

El uso de la columna permite la realización de varias muestras a la vez. La reciente introducción de 2 amortiguadores de cationes débiles para eluir la HbA_{1a} y la HbA_{1b} de la HbA_{1c}, permite la separación real de la HbA_{1c} con el método de microcolumna. El total de la hemoglobina es determinado indirectamente al medir la absorbencia del hemolizado antes de aplicarlo a la columna. Este tipo de método

ofrece importantes ventajas sobre otras técnicas que solo miden HbA₁ (37). Recientemente ha salido al mercado un equipo comercial en el cual una preparación hemolizada de sangre entera es mezclada continuamente durante 5 minutos con la resina catiónica. Durante éste tiempo la Hb A₀ queda adherida a la resina. Después del periodo de mezclado, se filtra para separar la resina del líquido sobrenadante que contiene la glucohemoglobina. El porcentaje de la glucohemoglobina se determina midiendo la absorbencia a 415 nm de la fracción de la glucohemoglobina y el total de la fracción de la hemoglobina calculando la razón del material de referencia hecho en el procedimiento de separación (58).

La segunda modificación de la cromatografía de intercambio iónico fue el uso de la cromatografía líquida de alta presión (HPLC). La mejor resolución y mayor velocidad del sistema de cromatografía líquida se realiza a una velocidad de 24 mL/h y 50 psi, permitiendo la separación de las hemoglobinas A_{1a}, A_{1b}, A_{1c}, y A₀ (37, 45).

En general el método de HPLC es una excelente técnica con buena precisión y permite una rápida separación de la Hb A_{1c} de los otros componentes menores de la hemoglobina y de la Hb A₀. El hemolizado se aplica a las columnas de vidrio que miden 0.8 x 3 cm, empacadas con resina de intercambio iónico. Usando un sistema de 2 amortiguadores, similar a los demás métodos de columna. La separación requiere aproximadamente 40 minutos (37, 45).

El primer amortiguador con un pH alto y menor concentración de iones sodio que el segundo, se aplica a la columna bajo una presión moderada y a una velocidad de flujo rápida. Después de la elución de las diversas fracciones menores de la hemoglobina, se aplica el segundo amortiguador para eluir la Hb A₀. La absorbencia del eluido es monitoreada constantemente, permitiendo la cuantificación de cada componente menor de la hemoglobina. Este método puede ser automatizado.

Aunque el costo de cualquier sistema HPLC es de aproximadamente \$140,000, el costo para realizar el estudio de cada muestra es muy bajo. Sin embargo, con éste método no se pueden realizar varias muestras a la vez, solo de una en una, estudiándose 18 muestras por hora, sin embargo es un sistema compacto totalmente automatizado y puede realizar la separación de hasta seis diferentes subfracciones (45). El control de calidad incluye el cuidado del pH del amortiguador y la temperatura, al igual que en el método de microcolumna.

El método de HPLC requiere meticulosas técnicas de laboratorio, para llevarla a cabo y mantener óptimos resultados. El equipo es caro, pero para los laboratorios que analizan muchas muestras a la semana, el costo por estudio es comparable con el método de microcolumna (45).

Otra modificación del método de intercambio iónico es el uso de un método de separación en grupo, similar al de microcolumna, le da al laboratorio ventaja de realizar varios estudios a la vez. Como el método de microcolumna, el método por grupos no separa las fracciones menores de la hemoglobina glucosilada (37).

Todos los métodos de intercambio iónico tiene limitaciones e interferencias. Las hemoglobinas glucosiladas lábiles (pre-HbA_{1c}) se remueven primero en la técnica. La hemoglobina fetal migra con la hemoglobina glucosilada y las hemoglobinas S y C no, por ésto su presencia ocasiona valores falsos altos o bajos (19, 21, 29, 37, 88).

El suero con quilomicrones, la administración de altas dosis de aspirina y la uremia interfieren con el método de cromatografía de intercambio iónico al medir la hemoglobina glucosilada. El lavado de la muestra es la parte de la preparación para remover las fracciones lábiles y así eliminar el problema con la glucosa libre. La carbamilación y la acetilación son factores que raramente dan falsas elevaciones de los resultados de la medición de la hemoglobina glucosilada en un

grado significativo (29, 37, 88). Las hiperlipidemias ocasionan falsas elevaciones (19, 58).

Una gran dificultad es la sensibilidad de la resina a los cambios de temperatura, por lo que se recomienda realizar las determinaciones a $22 \pm 5^\circ \text{C}$, ya que los valores obtenidos a esta temperatura reflejan mejor porcentaje real de la concentración de la hemoglobina glucosilada en la muestra de sangre (21, 32). La técnica es afectada por el pH, la fuerza iónica y la temperatura a la que se realiza la técnica, el peso de las columnas y las condiciones de almacenamiento de las muestras (32).

3.5.3.1.2. ELECTROFORESIS.

La densidad de la carga positiva de la hemoglobina glucosilada facilitan su separación por la técnica de electroforesis, por lo que la hemoglobina glucosilada puede medirse unicamente utilizando la electroforesis. En general cuando un hemolizado se aplica en un soporte bajo un potencial eléctrico, los componentes separados de la hemoglobina cruzan el soporte de acuerdo a su diferencia de cargas. En este método se utiliza un gel de agar de citrato disponible comercialmente. Es una alternativa útil del método de intercambio iónico. El gel presenta grupos sulfato y piruvato, con carga negativa que interacciona con los distintos componentes de la hemoglobina. La técnica se realiza con un amortiguador de citrato. Cuando una corriente eléctrica se aplica, la Hb A₀ migra más despacio que sus componentes menores. Todas las fracciones glucosiladas migran en una sola banda (HbA₁) en la técnica de electroforésis, también las hemoglobinas glucosiladas lábiles deben de ser removidas antes de realizar la técnica (4, 37).

La técnica requiere equipo especializado y costoso pero se compensa porque se pueden procesar varias muestras a la vez. Una desventaja es que el método solo mide la Hb A₁. La hemoglobina fetal y los intermediarios lábiles interfieren en los resultados, no así, las hemoglobinas S y C (37).

La hemoglobina fetal migra junto con las fracciones glucosiladas. Las hemoglobinas S y C migran en una espiga separada en el gel de agar. Con una variedad del potencial de voltaje, pueden realizarse 24 muestras en una hora. La técnica de electroforésis no se afecta por los cambios del pH o la temperatura del amortiguador, ya que es estable de 4 a 30 °C. Tampoco se altera por la concentración de triglicéridos. Presenta relación con los resultados de la cromatografía de intercambio iónico. (37).

3.5.3.1.3. PUNTO ISOELÉCTRICO.

El gel de poliglicano es un tipo especial de electroforésis que separa las hemoglobinas de acuerdo a su punto isoeléctrico (4, 37). El hemolizado es sujeto a una corriente eléctrica en el gel, que ha sido especialmente preparado para tener un gradiente de pH. La mezcla de poliamino y ácido policarboxilo, presentan diferentes puntos isoeléctricos para cada componente de la hemoglobina. Las hemoglobinopatías no afectan los resultados. La pre-hemoglobina A_{1c} si interfiere. Sin embargo hay reportes que indican que las pre-hemoglobinas A_{1c} pueden ser separadas de la Hb A₀ con un tomógrafo láser de alta sensibilidad. El equipo necesario es caro. El método se ha hecho más popular en Europa y Estados Unidos. Los resultados se relacionan bien con otros métodos de cuantificación de la hemoglobina glucosilada. La precisión de la técnica es comparable con otros métodos (37).

Aunque el método original de puntos isoeléctricos no separa las fracciones menores glucosiladas, el gradiente del pH de la superficie, permite la separación de la Hb A_{1a}, la Hb A_{1b} de la Hb A_{1c}, en el gel de agar de poliacrilamina. Las hemoglobinas S, C y F no interfieren con la técnica de puntos isoeléctricos y las hemoglobinas cuantificadas pueden separarse de la hemoglobina glucosilada, más importante aún es el hecho de que las hemoglobinas glucosiladas lábiles migran por separado de las fracciones estables. El control del pH y la concentración son críticos en este método. Los resultados se cuantifican con microdensitómetro. El número de estudios se limita por el número de líneas en el gel (37).

3.5.3.2. EN BASE A LA REACTIVIDAD QUÍMICA.

El método colorimétrico se utiliza con la técnica del hidroximetilfurfural/ácido tiobarbitúrico. En éste, el color medido a 443 nm, se forma de la reacción entre el 5-hidroximetilfurfural y el ácido tiobarbitúrico (4, 11, 29, 30, 37).

El azúcar que se une a la hemoglobina es convertida en 5-hidroximetilfurfural durante el tratamiento con calor al reaccionar con el ácido tiobarbitúrico (14,18). Este método determina los grupos de azúcar en los residuos de valina y lisina.

El método es poco afectado por muestras refrigeradas y las condiciones de almacenamiento, no se afecta por hemoglobinopatías o la adición a la hemoglobina de otros azúcares que no son la glucosa. Otra ventaja importante de este método es que la fructosa pura puede ser incluida como control. Sin embargo, la glucosa libre interfiere, por lo que, se debe remover antes de realizar la técnica por medio de diálisis. Es necesario una cuidadosa estimación de las condiciones requeridas para la técnica (37).

Un problema adicional ha sido que la unidad reportada de la hemoglobina glucosilada es diferente en cada laboratorio. Por ejemplo, como nanometros de hidróxi-metil-furfural/mg de hemoglobina o equivalentes de fructosa/mg de hemoglobina. Esto es extremadamente difícil de comparar, pues los resultados que reportan 2 laboratorios serán diferentes entre sí, por lo que ésta técnica puede aceptarse y ofrece una alternativa muy útil. Por el momento no se proporcionan equipos comerciales del método colorimétrico (37).

Teóricamente la técnica colorimétrica difiere de las demás técnicas anteriores porque mide toda la glucosa unida a valina y lisina en la hemoglobina glucosilada. Comparando con el método de intercambio iónico que detecta solo la glucosilación en el residuo N-terminal de valina. La técnica colorimétrica mide el total de la hemoglobina glucosilada, y tiene un coeficiente de correlación mayor a 0.9 (30).

El método colorimétrico consta de una técnica fácil, se puede procesar varias muestras al mismo tiempo, con buena exactitud y sensibilidad. Son los principales factores que nos conducen a elegir esta técnica de laboratorio. La importancia de remover las hemoglobinas glucosiladas lábiles y la estabilidad del almacenamiento de las muestras para tomarla en cuenta al seleccionar el método (30, 37).

Es importante mencionar que la Hb A₁ es comparable con el valor de la Hb A_{1c}. La Hb A₁ tiene un valor mayor que el de la Hb A_{1c}, pues la Hb A_{1c} solo mide una fracción de la hemoglobina glucosilada (usualmente de 1.5 a 3.5 %). Cualquiera de las mediciones es útil. Los resultados de la Hb A₁ y la Hb A_{1c} se pueden comparar en técnicas capaces de medirlas. El coeficiente de correlación usualmente excede el intervalo de 0.99 (30, 37).

Desafortunadamente el mayor problema con la técnica colorimétrica es que el ácido que hidroliza a la concentración de 1 M al ácido oxálico, solo hidroliza una pequeña y variable fracción del residuo de glucosa. La formación del color producido por el 5-hidroxi-metil-furfural y el ácido tiobarbitúrico depende del tiempo. Hay una pequeña cantidad de color no específico desarrollado en la técnica (30, 37).

3.5.3.3. EN BASE A DIFERENCIAS ESTRUCTURALES.

3.5.3.3.1. CROMATOGRAFÍA POR AFINIDAD.

La glucohemoglobina es separada de la hemoglobina no glucosilada en columnas de agarosa, la cual contiene ácido aminofenilbórico unido covalentemente. Este ligando se une con la forma ceto de la glucohemoglobina reteniéndola en la columna. La hemoglobina no glucosilada pasa a través de la columna como la primera fracción sin ser retenida (fracción 1). La glucohemoglobina unida es liberada del ácido fenilbórico utilizando un contra ión (sorbitol) siendo eluida y colectada (fracción 2).

El porcentaje de glucohemoglobina puede ser calculado después de medir la absorbencia de las dos fracciones.

Entre las ventajas prácticas del método destacan las siguientes (45):

- ◇ El ensayo de afinidad es un método manual con empleo de minicolumnas empacadas con agarosa.
- ◇ El ensayo de afinidad mide la glucohemoglobina total, para dar al analista un cuadro exacto del control de glucosa a largo plazo.

- ◇ Es altamente específico. No es influenciado por la temperatura, fracción lábil, presencia de hemoglobina fetal ni de variantes anormales de hemoglobina.

Recientemente ha salido al mercado estadounidense, éste método en forma automatizada (58, 31), en donde sólo se utiliza sangre de punción del dedo y cuyos resultados son similares a los de las muestras por venopunción, el nombre comercial es Abbott Vision y está basado en la afinidad de la glucohemoglobina al ácido 3-aminofenil borónico inmovilizado en un soporte dividido de agarosa.

3.5.3.4. OTRAS TÉCNICAS.

3.5.3.4.1. ENSAYO INMUNOENZIMÁTICO.

El ensayo inmunoenzimático (EIA) está basado en la microtitulación en plato, utilizando un anticuerpo en contra del epítotope que es el producto de Amadori de la glucosa, en especial el octavo aminoácido N-terminal de la cadena beta de la hemoglobina.

Este es el primer método que detecta específicamente la glucosilación no enzimática, cuyos resultados no son afectados por los diferentes anticoagulantes utilizados, así como tampoco es afectado por la concentraciones de alguna hemoglobina anormal (a excepción de cromatografía de afinidad); además el método muestra una buena correlación con los métodos anteriormente descritos ($r= 0.88-0.98$).

Muchos métodos utilizados comunmente para estimar el porcentaje de glucohemoglobina son susceptibles a cambios ambientales (ejem. cromatografía de intercambio iónico), imprecisos (ejem. electrofesis en agar) o requieren una

labor intensa (ejem. cromatografía de afinidad). El método de EIA para Hb A_{1c} es potencialmente específico, robusto.

Actualmente se tiene un equipo automatizado que aún no se ha comercializado el DCA 2000, el cual es un sistema para la medición de Hb A_{1c} basado en la inhibición de la inmunoaglutinación en látex. El sistema consiste en un pequeño y precalibrado espectrofotómetro que contiene un cartucho con dos reactivos; un reactivo humedo consistente en una solución de tiocianato (600 µL) y un reactivo seco en papel el cual es un aglutinador compuesto por partículas de látex recubiertas de un anticuerpo y un oxidante: ferrocianida de potasio. El instrumento ejecuta todas las funciones de la prueba para la medición de Hb A_{1c} a 37 °C después de que el cartucho de reactivos es insertado en la cámara de prueba. El sistema tiene un lector de código de barra para la entrada de la información de calibración e identificación de todos los reactivos. La Hb A_{1c} en la muestra compete con un aglutinador por el látex cubierto de un anticuerpo monoclonal específico para la Hb A_{1c}; la absorbencia es medida a 531 nm. La heoglobina total se mide también en el mismo cartucho por el método de tiocianometahemoglobina en el cual el Fe²⁺ de la hemoglobina es oxidado a Fe³⁺ de metahemoglobina por la ferrocianida, y la metahemoglobina es convertida a tiocianometahemoglobina por el tiocianato.

El procedimiento es fácil de realizar, ya que es un método automatizado y hay menos potencial de error. El tiempo de análisis es de 9 minutos. El sistema puede ser utilizado por pequeños laboratorios o para un automonitoreo por el paciente.

3.5.4. PRECAUCIONES.

Cada técnica tiene problemas particulares asociados con su uso y éste tiende a depender de la naturaleza del modo particular del análisis, sin embargo a continuación se mencionan algunos de estos.

- ◇ Factores de la técnica. Las condiciones de la técnica pueden afectar los resultados, como la temperatura, el pH, la fuerza iónica y el medio. La aplicación de estos importantes factores suman la variabilidad de los resultados de la técnica.
- ◇ Fracciones lábiles. Sabemos que la formación de la hemoglobina glucosilada consta de dos pasos, con la formación inicial de un intermediario, la base de Schiff, resultando de la unión de la glucosa y la hemoglobina. Este compuesto lábil es llamado pre-A1c, cuando la glucosa se une al grupo amino terminal de la valina de la cadena beta, entonces se une irreversiblemente, cambiando la forma de la hemoglobina a la forma glucosilada (cetoamina) o se disocia en glucosa y Hb A. Desafortunadamente este intermediario da incrementos falsos positivos en los ensayos de cromatografía, por lo que es necesario removerlo.
- ◇ Anemias hemolíticas, flebotomias y embarazo. Todas estas situaciones tienden a disminuir los resultados de la hemoglobina glucosilada para expresar los valores en proporción a la disminución del tiempo de supervivencia del eritrocito, que es más corto.
- ◇ Hemoglobinopatías. Diversas variantes de la hemoglobina son asociadas con falsos incrementos o disminuciones de los valores de la hemoglobina glucosilada, dependiendo de las características de la carga de la partícula variante. La hemoglobina fetal por cromatografía corre junto con las hemoglobinas rápidas, incrementando aparentemente la concentración de Hb A1c. Otras hemoglobinopatías como la Hb C y S, disminuyen falsamente los resultados del examen. En la mayoría de la población de pacientes diabéticos estas hemoglobinopatías son relativamente raras, pero en situaciones clínicas

son más frecuentes. Los métodos que se basan en la diferencia de cargas pueden preferirse, como la cromatografía de intercambio iónico. La HPLC no se afecta por la presencia de las hemoglobinas F, C y S.

- ◇ Uremia. La hemoglobina A1 se reporta más elevada en insuficiencia renal. Esto parece ocurrir a pesar de la corta sobrevivencia del eritrocito en el paciente con uremia.
- ◇ Consumo de alcohol. El acetaldehído puede mostrar cambios en la cromatografía, es el producto final del alcohol el que produce falsos aumentos de los niveles de hemoglobina rápida, cuando se mide por métodos físicos.
- ◇ Aspirina. La aspirina también puede transferir un grupo acetil a la hemoglobina. Esto cambia las propiedades físicas de la hemoglobina.
- ◇ Unión a sustancias no azúcares. Varias sustancias distintas a los azúcares se pueden unir a la hemoglobina, alterando su carga característica. Estas uniones en la cromatografía de las hemoglobinas menores aumentan falsamente los resultados del examen. Estas circunstancias no afectan a la cromatografía de intercambio iónico. Las fracciones de la Hb A_{1a+b} son más afectadas que la Hb A_{1c}, así que las técnicas que cuantifican la Hb A_{1c} muestran una mínima alteración por estas interferencias, raramente mayores a 1 %.
- ◇ Anticoagulantes. Las muestras se deben recolectar con EDTA, pues la heparina o el fluoruro de sodio alteran los resultados.
- ◇ Manejo y almacenamiento de la muestra. Tanto el almacenamiento de la sangre como la temperatura mayor a 4° C incrementa las fracciones A_{1a+b} siendo dependiente del tiempo y de la temperatura. La hemoglobina es insignificamente afectada. Sin embargo los métodos que determinan la Hb A₁ mostrarán aumentos falsos de los valores, si las muestras son enfriadas antes de realizar la técnica.
- ◇ Interferencia por otras sustancias. Cuando los hemolizados son preparados directamente de la sangre fresca, la concentración normal de triglicéridos o bilirrubinas aumentan falsamente los resultados para la Hb A₁ y Hb A_{1c}.

3.5.5. INTERPRETACION Y UTILIDAD CLÍNICA.

Cualquier método realizado para medir la hemoglobina glucosilada tiene algunas condiciones diferentes en cada laboratorio. No hay consenso entre ellos, un método de referencia o simple estándar de hemoglobina glucosilada. Los laboratorios han usado gran variedad de procedimientos y materiales de control de calidad para ésto. De estos materiales los más frecuentes son los hemolizados liofilizados que se reconstituyen localmente en el laboratorio y se usan por varios días o semanas. Así vemos que no se puede correlacionar los resultados entre distintos laboratorios. Todos los métodos se correlacionan entre sí, el problema es que no se han estandarizado como otras técnicas donde pueden desarrollarse utilizando una curva estándar de referencia.

La medición de la Hb A1c es particularmente útil en diversa situaciones:

- Seguimiento del grado de control metabólico en pacientes con DMID y DMNID. Las mediciones cada tres meses juzgan la eficiencia del tratamiento y las complicaciones del paciente.
- Saber el grado de control metabólico en pacientes que no se han realizado exámenes previos.
- Evaluar la hiperglucemia por estrés o por enfermedad intercurrente como la sepsis, por hospitalización pero sin historia de diabetes. En cualquiera de estos casos y con una hemoglobina glucosilada normal, se descarta la intolerancia a la glucosa y sugiere que la hiperglucemia está relacionada al estrés por enfermedad. Sin embargo, si la hemoglobina glucosilada es mayor a lo normal, el paciente tendrá intolerancia a la glucosa.
- La identificación de pacientes con riesgo a la hipoglucemia. Los pacientes tratados con insulina pueden presentar hipoglucemias, particularmente en la noche, cuando los síntomas pueden ser inaparentes. Un descenso de la Hb A1c

mayor al intervalo inferior puede alertar al médico a esta probabilidad y hacer un cambio oportuno del tratamiento.

- Para aclarar contradicciones y confusiones en la prueba de tolerancia oral a la glucosa. En caso de glucemia normal y prueba de tolerancia a la glucosa con una insignificante elevación posprandial, la hemoglobina glucosilada dará la pauta del diagnóstico.
- La evaluación de cualquier cambio de tratamiento. La glucemia es sujeta a muchas variaciones y refleja un punto en el tiempo siendo difícil hacer un juicio terapéutico basado solo en esta información.

Ahora bien, la hemoglobina también nos presenta las siguientes limitantes: Obviamente no refleja la ocurrencia de episodios hipo o hiperglucémicos. No es útil en presencia de ciertos desordenes hematológicos en los que la vida media del hematocito está alterada. A pesar de recientes modificaciones, la metodología analítica es aún más cara y laboriosa que las otras determinaciones empleadas para evaluar el control metabólico en pacientes diabéticos.

3.6. FRUCTOSAMINA O ALBÚMINA GLUCOSILADA.

Como todas las proteínas séricas pueden sufrir glucosilación y la albúmina es la proteína más abundante en suero, la determinación de fructosamina es en gran parte una determinación de albúmina glucosada. Por tanto la fructosamina es una medida del control glucémico durante el período de tres semanas antes del muestreo, ya que la vida media de la albúmina es de dos a tres semanas.

El término fructosamina se refiere al enlace cetoamínico entre la glucosa y una proteína, y se emplea para expresar la suma de todos los enlaces cetoamínicos entre la glucosa y la proteína de la muestra. La fructosamina no está

relacionada con la fructosa con excepción de que la cadena de azúcar resultante tiene configuración similar a la de ésta.

3.6.1. MÉTODO.

La determinación de fructosamina es más fácil que la de hemoglobina glucosilada porque es un procedimiento colorimétrico sencillo que se basa en la capacidad de los enlaces de fructosamina para reducir el colorante nitroazul de tetrazolio. Asimismo, la fructosamina responde con más rapidez a los cambios en el control de la glucosa que la hemoglobina glucosilada y no la afectan las hemoglobinopatías o el recambio rápido de hemoglobina. Sin embargo hay algunas controversias con respecto a si el análisis de fructosamina tiene especificidad adecuada y acerca de la manera en que debe llevarse a cabo la prueba (98).

3.7. PRUEBAS PARA EVALUAR LA FUNCION RENAL

En vista de la importancia de un control glucémico estricto para la prevención o detección de las complicaciones de la diabetes, hay un interés creciente en realizar constantemente pruebas de monitoreo que ayuden a la evaluación del paciente diabético en el desarrollo de complicaciones.

Las pruebas de laboratorio más alteradas en los pacientes diabéticos son las siguientes:

◆ HEMATOLOGÍA

- * Aumento de recuento de plaquetas.

◆ BIOQUÍMICA

- * Aumento de los niveles séricos de urea, creatinina y ácido úrico en insuficiencia renal. La presencia de cifras altas de glucosa y acetona puede interferir con el análisis de la creatinina.
- * Hipouricemia debido a hiperuricosuria.
- * Hiponatremia debida a hiperglucemia.
- * Hipocalcemia, hipopotasemia, hiponatremia e hipocloremia debidas a diuresis osmótica secundaria a la hiperglucemia.
- * Hiperpotasemia relacionada con acidosis metabólica.
- * Disminución del CO₂ total por cetoacidosis.
- * Hipercalcemia a causa de hiperalbuminemia con deshidratación.
- * Hiperfosfatemia causada por intolerancia a la glucosa e hiperglucemia.
- * Aumento de los niveles CK, LD, AST y ALT a causa de los efectos sobre el músculo esquelético y el hígado graso.
- * Aumento de la FA
- * Hiperproteíнемia e hiperalbuminemia debidas a deshidratación.
- * Hipercolesteronemia e hipertrigliceridemia debidas al transtorno del metabolismo de los hidratos de carbono.

Debido a que la mayoría de los laboratorios clínicos cuenta generalmente con un conjunto de pruebas de función renal se ha dado mayor énfasis en el monitoreo de esta, por lo que a continuación se describen brevemente las pruebas más utilizadas para su monitoreo.

3.7.1. CREATININA.

La prueba de creatinina es una medida relativamente exacta y útil de la velocidad de filtración glomerular. La relativa exactitud proviene de que la

creatinina no se reabsorbe por los túbulos y que la ingestión de líquido y su eliminación afectan mucho menos la depuración de creatinina que la de urea. La producción de creatinina es constante mientras la masa muscular permanezca constante. Una alteración de la función renal reduce la excreción de creatinina, originando un aumento en las concentraciones de creatinina en la sangre (89).

La prueba es más específica y sensible como indicador de una enfermedad renal que la prueba del BUN (nitrógeno ureico), aunque en una enfermedad renal crónica, el BUN se correlaciona más exactamente con los síntomas de uremia que la creatinina de la sangre (33).

3.7.1.1. MÉTODO.

La creatinina es determinada por medio de la reacción de Jaffé, en la cual la creatinina en medio alcalino forma con el ácido pícrico un compuesto de color rojo amarillento, cuya intensidad es proporcional a la concentración de creatina presente, la cual es leída a una longitud de onda de 500 nm.

3.7.1.2. PRECAUCIONES.

- * Las cifras elevadas de ácido ascórbico pueden ocasionar una concentración falsamente elevada.
- * Los fármacos que influyen en la función renal además de otra medicación pueden originar un cambio en la creatinina de la sangre.
- * Una dieta en carne ocasionará cifras aumentadas.

3.7.1.3. INTERPRETACIÓN.

Los valores normales para mujeres son de 0.6 a 1.2 mg/dL; para hombres: 0.7 a 1.3 mg/dL. Las cifras elevadas de creatinina se presentan cuando hay un deterioro en la función renal.

3.7.2. UREA.

La urea se forma en el hígado y constituye el principal producto final nitrogenado no proteínico del catabolismo de las proteínas. La urea es entonces transportada por la sangre a los riñones para excretarla en la orina.

La prueba de BUN mide la proporción nitrogenada de la urea, se utiliza como un índice macroscópico de la función glomerular o de la producción y excreción de urea.

3.7.2.1. MÉTODO.

En el método de Chaney-Marbach la ureasa hidroliza la urea del suero y solamente la urea, en CO_2 y NH_3 . Este ión amonio es convertido en indofenol de color azul mediante el tratamiento con fenol e hipoclorito de sodio en solución alcalina (reacción de Berthelot) que contiene un catalizador (nitroprusiato de sodio). La intensidad de color azul es directamente proporcional a la concentración de urea en la muestra. No es necesario hacer precipitación de proteínas en este método. La ureasa se protege en una solución de EDTA, que secuestra los iones metálicos inhibidores.

3.7.2.2. PRECAUCIONES.

- ⇒ El BUN es normalmente más bajo en niños y en mujeres porque tienen menor masa muscular que los hombres adultos.
- ⇒ Se presentan valores de urea normalmente aumentados al final del embarazo y la infancia, debido a un incremento del empleo de proteínas.
- ⇒ Las personas mayores pueden tener aumentado los niveles de urea cuando sus riñones no son capaces de concentrar la orina adecuadamente.
- ⇒ Muchos fármacos causan aumento o disminución de la urea.

3.7.2.3. INTERPRETACIÓN.

Los valores normales son de 7-18 mg/dL o 2.5-6.3 mmol/L. La causa más común de una cifra aumentada es la excreción inadecuada debido a una nefropatía o a una obstrucción urinaria. Una urea aumentada de 50 a 150 mg/dL indica una lesión seria de la función renal. Una urea aumentada de 150 a 250 mg/dL es prueba definitiva de insuficiencia renal gravemente deteriorada.

3.7.3. MICROALBUMINURIA.

La detección de microalbuminuria ha tomado gran importancia, ya que puede ser un predictor de la falla renal, tanto en pacientes con DMID como con DMNID. Se dice que un incremento de la excreción urinaria de albúmina predice la falla renal en pacientes con diabetes y en la población general asociada posiblemente con el síndrome metabólico, dentro del cual el aumento de la presión sanguínea juega un papel importante (68, 76).

Varios estudios muestran que el desarrollo de microalbuminuria está relacionado con un pobre control glucémico (68, 76), sin embargo otros estudios mencionan que en realidad es el aumento de la presión sanguínea lo que causa la microalbuminuria pero lo que si es bien sabido, es que una vez que aparece, la falla renal ha comenzado.

3.7.3.1. MÉTODO.

El método más utilizado es el inmunturbidimétrico, en muchos laboratorios de Estados Unidos, siendo el método de rutina pero desgraciadamente en México no se cuenta todavía con este método, y se utilizan tiras "dip Stick" que pueden ser de mucha ayuda (68).

3.7.3.2. PRECAUCIONES.

Se debe tener mucho cuidado al elegir el tipo de recolección de orina, algunos procedimientos para su muestreo han propuesto la recolección de orina de 24 horas, recolección por la noche, recolección en corto tiempo en la clínica y relación de albúmina-creatinina en la primera orina de la mañana. No hay estudio formal que diga cual es el mejor procedimiento de recolección, pero si hay consenso que dice que el monitoreo puede ser fácilmente realizado por la medición de la relación de albúmina-creatinina en la primera orina de la mañana. Otras fuentes de confusión pueden ser la postura o la variación diurna, el ejercicio, infección en el tracto urinario y otras enfermedades (68).

3.7.3.3. INTERPRETACIÓN.

Se considera microalbuminuria cuando se obtienen las siguientes cifras:

- * Intervalo de excreción de albúmina 20-200 $\mu\text{g}/\text{min}$ o 30-300 mg/24 h.
- * Relación albúmina/creatinina 2.5-25 mg/mmol en Europa.
- * Relación albúmina/creatinina 30-300 mg/g en USA.
- * Concentración de albúmina (primera orina de la mañana) 30-300 mg/L

DISCUSIÓN

A lo largo de las dos últimas décadas, ha habido un gran adelanto en los conocimientos de las bases bioquímicas e inmunológicas de los trastornos que son capaces de producir hiperglucemia. Es evidente que la diabetes insulino dependiente o *diabetes mellitus* tipo I (DMID) y la diabetes no insulino dependiente o *diabetes mellitus* tipo II (DMNID) son patológicamente distintas. Además de estas dos formas clínicas de diabetes, debemos tomar en cuenta aquéllas que comienzan en la adolescencia, diabetes de la madurez y las formas secundarias que pueden acompañar a algunas enfermedades.

En el primer capítulo de esta revisión bibliográfica se da una panorámica general a modo de recordatorio de los procesos que transforman y regulan los carbohidratos, los cuales es sabido se alteran en la enfermedad de la diabetes.

En el capítulo número dos se abarca la clasificación y etiopatogenia de la diabetes mellitus, ya que en un gran número de países la DMID es la tercera afección crónica severa más frecuente en la infancia, y en poblaciones de riesgo moderado cada 3 de 1000 niños han desarrollado una diabetes a la edad de 20 años. Los estudios internacionales tratan de establecer las posibles relaciones entre la DMID y ciertos estilos de vida, las dietas, algunos virus y los diferentes grupos étnicos.

Los mecanismos patogénicos muestran una relación directa con la destrucción de las células beta del páncreas o con una alteración en su función, por lo que se debe considerar a la DMID como una destrucción de las células beta secretoras de insulina de tipo autoinmune.

En otros casos pueden presentarse trastornos que afecten la acción de la insulina de forma extrapancreática, esto es, como las alteraciones en la capacidad de unión de los receptores de insulina, así como las insulinopatías con modificación genética de las estructuras primarias de la insulina.

Con respecto a la dieta, se han estudiado modelos experimentales de la DMID que muestran cantidades elevadas de anticuerpos específicos de la albúmina sérica bovina.

Por otro lado la Diabetes mellitus no insulino dependiente o tipo II (DMNID) se presenta cada vez más en la población occidental, debido a esto se han realizado diversos estudios e investigaciones sobre esta enfermedad.

La DMNID está caracterizada por anomalías metabólicas, pero que durante muchos años los pacientes pueden no presentar ninguna sintomatología. Los síntomas clásicos de esta enfermedad son la poliuria, adelgazamiento, astenia, polidipsia y polifagia.

En la patogénesis de esta enfermedad están involucradas varias etapas progresivas como la susceptibilidad genética, la hiperinsulinemia y/o la resistencia a la insulina, que es un defecto temprano y está presente en la mayoría de los pacientes diabéticos tipo II, en etapas tempranas de evolución; además se presenta en familiares aparentemente no diabéticos aunado a una tolerancia a la glucosa alterada o dañada.

Tanto en la DMID como en la DMNID se presentan las complicaciones tardías, que afectan a órganos y sistemas como los ojos, riñones, sistema nervioso, vasos sanguíneos y la membrana basal.

La actualización sobre las complicaciones tienen una gran importancia, que permitirá lograr mejores condiciones de vida para los pacientes.

Dentro de las repercusiones metabólicas de la hiperglucemia patológica tenemos la glucosilación no enzimática de proteínas, la vía del poliol, la vía del mioinositol y fosfatilinositol, la hipoxia tisular relativa y los oxidantes por estrés.

Es de gran importancia la revisión que se realiza en el capítulo tres, en cuanto a los métodos de diagnóstico de la *Diabetes mellitus*, así como los métodos de seguimiento para un control glucémico estricto, lo anterior para lograr una prevención o detención de las complicaciones tardías de la diabetes. Así pues, ha habido un interés creciente en los métodos utilizados para evaluar las concentraciones de glucosa en sangre, ya que de esto depende en gran medida el enfoque terapéutico, así tenemos que es diferente si se trata de un caso que tienen valores de glucosa moderadamente por arriba de lo normal, aún después de semanas de la evolución sin tratamiento, a un caso con una glucemia muy alta, acidosis y una gran deshidratación. Además se deben considerar las ventajas y desventajas que presentan los métodos actuales de diagnóstico y seguimiento, para la utilización e implementación de nuevos métodos.

CONCLUSION

Esta revisión sobre el estado actual de la diabetes, ha contemplado estudios multidisciplinarios para la realización de un mejor diagnóstico diferencial y un seguimiento de la enfermedad de la *Diabetes mellitus*.

La recopilación realizada ofrece la información más actualizada sobre:

- Metabolismo de los carbohidratos
- Diabetes, etiopatología, clasificación y complicaciones
- Métodos de diagnóstico y seguimiento

Todo lo anterior servirá como una herramienta útil para proporcionar las bases fisiopatológicas que se requieren para intentar realizar nuevas metodologías de prevención, diagnóstico, seguimiento y tratamiento de la *Diabetes mellitus*.

Como se observa en el presente trabajo los mayores avances se han realizado en el conocimiento de la patogénesis de la Diabetes, los nuevos conocimientos acerca de la glicosilación no enzimática pueden conducir a avances significativos en el diagnóstico y la terapia.

En el campo del diagnóstico, el aislamiento y la identificación del producto final de glicosilación avanzada como el 2-furil-4(5)-2 furanil-1H imidazol (FFI), ahora hace posible que empiece a desarrollarse un método analítico para medir la acumulación de los productos finales de glicosilación avanzada, lo cual permitirá conocer el tiempo promedio en que el paciente inició con hiperglucemia y comenzar a prevenir las complicaciones agudas y crónicas.

El conocimiento de que la presencia de HLA-DR4 es asociado con el riesgo de padecer diabetes ofrece la oportunidad de utilizar un procedimiento de laboratorio para realizar un diagnóstico presuntivo de la enfermedad.

Terapéuticamente, el conocimiento de la patogénesis de la diabetes, proporciona bases para desarrollar nuevos agentes farmacológicos en base al conocimiento de la bioquímica de la formación de los productos finales de glicosilación avanzada sobre las proteínas de los tejidos de los pacientes diabéticos, que intente prevenir la formación de los productos de Amadori, por una modificación química no específica de los grupos amino de las proteínas, lo cual resultaría en cambios patofisiológicos. Igualmente en base a los conocimientos pudieran desarrollarse otras formas de insulina para el tratamiento intensivo.

Así pues, se puede ver que hay un campo amplio para desarrollar otras metodologías que ayuden a prevenir, tratar e incluso erradicar la *Diabetes mellitus*.

GLOSARIO DE TERMINOS

1. AMIOTROFIA. Atrofia muscular.
2. ANGIOPATIA. Enfermedad de los vasos sanguíneos.
3. ANTICUERPO. Proteína hecha por el sistema inmune para proteger contra sustancias extrañas al organismo.
4. ARRITMIA. Desviación del patrón normal en los latidos del corazón.
5. ASTENIA. Ausencia o disminución de fuerza o energía; debilidad.
6. ATEROESCLEROSIS. Depósito de placas amarillentas de colesterol, lípidos y restos celulares en la superficie interna de las paredes de las arterias de tamaño grande y mediano.
7. ATROFIA. Disminución del volumen y peso de un órgano por defecto de nutrición.
8. BIPEDESTACION. Desplazamiento sobre dos pies.
9. CELULA BETA. Célula que se encuentra en el páncreas , que produce insulina. Esta célula es encontrada en el tejido llamado Islote de Langerhans. Estos islotes contienen células beta, células alfa y células delta.
10. CISTOPATIA. Enfermedad de las vías urinarias.
11. DECUBITO. Posición horizontal o recostada.
12. DISESTESIA. Efecto frecuente de la lesión de la médula espinal, caracterizada por sensación de adormecimiento, hormigueo, quemazón o dolor por debajo de la lesión.
13. DISPAREUNIA. Trastorno de la mujer, en el que la relación sexual se acompaña de dolor.
14. DIURESIS OSMOTICA. Diuresis producida por la presencia de ciertas sustancias no absorbibles como el manitol, urea o glucosa.
15. DIURESIS. Aumento de formación y secreción de orina.

- 16.DURAMADRE. La más externa y fibrosa de las tres membranas que rodean el encéfalo y la médula espinal. La duramadre encefálica cubre el encéfalo y la duramadre espinal, la médula.
- 17.EDEMA. Acumulación de líquido seroalbuminoso en el tejidos celular.
- 18.ENURESIS. Incontinencia de orinar especialmente en la noche y en la cama.
- 19.ESTEATORREA. Cantidades mayores de lo normal de grasa en las heces, que se caracterizan por la presencia de materiales fecales malolientes y espumosos que flotan.
- 20.EYACULACION RETROGRADA. Eyaculación del semen en sentido opuesto, esto es, a la vejiga urinaria.
- 21.FECALOMA. Acumulación de materias fecales en el intestino, que simula un tumor abdominal.
- 22.FIBROSIS. Proliferación del tejido conectivo fibrosos.
- 23.GASTROPARESIA. Parálisis del estómago; grado máximo de atonía gástrica.
- 24.HIPERPNEA. Respiración profunda, rápida o fatigosa.
- 25.HIPERTONIA. Aumento anormal del tono o de la fuerza muscular. Situación de presión excesiva, como en la presión intraocular del glaucoma.
- 26.HIPERTONICO. (de una solución) que tienen una concentración de soluto mayor que otra solución, como ocurre con un suero fisiológico hipertónico que contiene más sal que la que existe en los líquidos intra y extracelulares.
- 27.HIPOSTESIA. Sensación anormalmente débil en respuesta a la estimulación de los nervios sensoriales. El tacto, el dolor, el calor y el frío se perciben débilmente.
- 28.HIPOTONIA. Alteración caracterizada por un tono o tensión disminuidos que pueden afectar a cualquier estructura corporal.
- 29.HIPOTONICO. (de una solución) que tienen una concentración de soluto inferior a otra solución, ejerciendo así menos presión osmótica que esa solución, como el suero salino hipotónico que contiene menos sal que la presente en los líquidos intra o extracelulares. En una solución hipotónica las células se expanden.

30. **INFARTO.** Zona de necrosis localizada en un tejido, vaso, órgano o parte del mismo debida a anoxia tisular.
31. **ISQUEMIA.** Disminución del aporte de sangre a una parte u órgano del cuerpo, frecuentemente marcada por dolor y disfunción orgánica.
32. **LIPOHALINOSIS.** Acción de transformar el color característico de los lípidos a un color transparente como el cristal.
33. **MICROANEURISMA.** Dilatación microscópica localizada en la pared de un vaso sanguíneo.
34. **ORTOSTATICO.** Perteneciente a una posición erecta o de pie.
35. **PERIMACULAR.** Alrededor de una pequeña zona pigmentada o mancha que aparece separada o diferente del tejido que la rodea.
36. **QUIMO.** Contenido viscoso, semilíquido presente en el estómago durante la digestión de la comida.
37. **SINCOPE.** Breve pérdida de consciencia provocada por una hipoxia cerebral transitoria.
38. **TAQUICARDIA.** Transtorno en el que el corazón se contrae de forma regular pero a una frecuencia superior a 100 latidos por minuto.
39. **TOMOGRAFIA.** Técnica radiológica que produce una película que representa una sección de corte detallada de una estructura tisular a una profundidad predeterminada. Es un instrumento diagnóstico válido para el descubrimiento e identificación de lesiones ocupantes de espacio, como las que pueden aparecer en el cerebro, hígado, páncreas y vesícula biliar.
40. **ULTRADIARIO.** Relativo a un biorritmo que tiene lugar en ciclo de menos de 24 horas.
41. **UROSEPSIS.** Estado séptico debido a la absorción y descomposición de sustancias de la orina en los tejidos.

REFERENCIAS

1. Abreu Luis Martin. Introducción a la Medicina Interna. Diabetes Mellitus. Edit. Méndez Cervantes 1990; 27: 101.
2. Amezcua Carrasco Francisco. Tesis: Infecciones micóticas más Frecuentes Asociadas a Diabetes Mellitus. UNAM, 1990.
3. Anales Nestlé. Resúmenes de Trabajos Seleccionados de la Literatura Reciente Sobre Diabetes Mellitus. Fructosamina, Hemoglobina Glicosilada y Péptido C. Anales Nestlé 1991; 49 : 120-122.
4. Anderson-Cockayne. Química Clínica. Edit. Interamericana Mc Graw Hill. 1a Edición, México 1995; 6: 141-164.
5. Arenas R. Candidosis en el paciente Diabético. Resúmenes de Trabajos Científicos. Memorias del XIX Congreso Nacional de Bioquímica Clínica. Bioquímica 1996; 21:50.
6. Argeri Cecilia B., Argeri Teresita A., darbón Hector A., "et al". Analisis de orina. Edit. Panamericana 1993. 1: 37-40.
7. Atkinson Mark A. and Maclaren Noel K. The Pathogenesis of Insulin Dependent Diabetes Mellitus. NEJM, 1994; 24: 1428-1436.
8. Barragan Esquivel Esther. Hemoglobina Glicosilada como Indicador del Control Metabólico del Enfermo Diabético. Tesis de Licenciatura. Univ. Fem. de Méx. Escuela de Química 1987. p.p. 15-17.
9. Baxter Roberto C. Insulin-Like Growth Factor Binding Proteins as gluco regulators. Metabolism, 1995; 44 (10) suppl 4: 12-17.
10. Bloomgarden, Z. T. Monitoring Glucose, Defining Diabetes and Traeting Obesity. American Diabetes Association Post - Graduate Course, 1996. Diabetes Care 1996; 19 (6): 676 - 680.
11. Boehringer Manheim. Actualidades Médicas. Diabetes Mellitus-Instrucción a los pacientes y autocontrol. Parte II: Análisis Costo / Beneficio. Lakeside 1992; 16:1.

- 12.Boehringer Mannheim. Diabetes, Autocontrol de Glucosa. Orina. Lakeside, 1994.
- 13.Bonifaz Trujillo A. Mucormicosis en el Paciente Diabético. Resúmenes de Trabajos Científicos. Memorias XIX Congreso Nacional de Bioquímica Clínica. Bioquímica 1996; 21:50
- 14.Brownlee Michael, Helen Vlassara and Anthony Cerami. Nonenzymatic Glycosylation and the Pathogenesis of Diabetic Complications. Annals of Internal Medicine, 1984; 101: 527-537.
- 15.Brownlee Michael, M. D. Glycation Products and the Pathogenesis of Diabetic Complications. Diabetes Care 1992; 12 (12): 1835- 1840.
- 16.Brownlee Michael. Glycation and Diabetic Complications. Diabetes. 1994; 43: 836-841.
- 17.Cagliero E., Roth T. and Lorenzi M. A. Possible Role of Nonenzymatic Glycosilation in the Increased Expression of Basemen Membrane Components Induced by High Glucose. Diabetes 1989,58: 83 A.
- 18.Caplan Louis R. Diabetes and Brain Ischemia. Diabetes, 1996; 45 (suppl 3): S95-S97.
- 19.Carter J.S., Houston C.A., Gililand S. S., Perez G.E., Owen C.L., Pathak D.R., Little R.R. Rapid HbA1c Testing a Community Setting. Diabetes Care, 1996; 19 (7): 764-767.
- 20.Cas W. Weykamp, Theo J. Penders, Frits A. J. Muskiet, and Willem Vander Slik. Effect of Calibration on Dispersion of Glycohemoglobin Values Determined by 111 Laboratories Using 21 Methods. Clin. Chem. 1994; 40: 138-144.
- 21.Cas W. Weykamp, Theo J. Penders, Frits A. J. Muskiet, and Willem Vander Slik. Influence of Hemoglobins Variants and Derivates on Glycohemoglobin Determinations, as Investigated by 102 Laboratories Using 16 Methods. Clin. Chem. 1993; 38: 1717- 1723.
- 22.Cas W. Weykamp, Theo J. Penders, Henk Baadenhuijsen, Frits A. J. Muskiet, Wimbert Martina, and Willem van der Slik. Vitamin C and Glycohemoglobin. Clinical Chemistry, 1995; 41 (5) : 713-716.

23. Cas W. Weykamp, Theo J. Penders, Kor Miedema, Frits A. J. Muskiet, and Willem Vander Slik. Standardization of Glycohemoglobin Results and Reference Values in Whole Blood Studied in 103 Laboratories Using 20 Methods. *Clin. Chem.* 1995; 82-86.
24. Chiumello G., Bognetti E., Meschi F. Diabetes en la Infancia. *Anales Nestlé* 1991; 49 : 75
25. Clark M. Charles and Lee Anthony. Prevention and Treatment of the Complications of Diabetes Mellitus. *NEJM*, 1995; 332(18): 1210-1217.
26. Clausen Jasper O. "et al". Insulin Resistance : Interactions Between Obesity and a Common Variant of Insulin Receptor Substrate-1. *The Lancet* 1995; 346 (8972): 397-402.
27. Clements G. B. Galbraith D. N., Taylor K. W. Coxackie B Virus Infection and Onset of Childhood Diabetes. *The Lancet* 1995; 346 (8969) : 221-223.
28. De Santiago Manuel. Diabetes Mellitus en la Práctica Médica. Madrid, 1992. Edit. ELA. Tomo I. 62-67.
29. Eagle Diagnostics. Panfleto para Glicohemoglobina. Mel de México S.A. de C.V. 1996.
30. Ezcurra Ferrer, E. La hemoglobina Glicosilada y su Importancia en la Práctica Asistencial e Investigativa en el Campo de la Diabetes Mellitus. *Rev. Bibliográfica. Revista Cubana de Medicina* 1993; 25 : 592- 602.
31. Ezcurra Ferrer, E. Montaje y Estandarización de la Determinación Colorimétrica de Hemoglobina Glicosilada. *Revista Cubana de Medicina* 1986; 25: 660 - 666.
32. Fiechtner Michael, Jack Ramp, Barbara England, Mary A. Knudson, Randie R. Little, Jack D. England, David E. Goldstein and Annette Wynn. Affinity Binding Assay of Glycohemoglobin by Two-Dimensional Centrifugation Referenced to Hemoglobin A1c. *Clin. Chem.* 1992; 38 (12) : 2372 - 2379.
33. Fischhbach, Frances T. Manual de Pruebas Diagnósticas. Edit. Interamericana. Mc Graw Hill. 3ra edición, México D.F., 1989. pp. 289-292.
34. Flurian Lang Siegfried Waldegger. *American Scientist*, 1997. 85:462

35. Fujimoto Wilfred Y. and Et al. Coronary Heart Disease and NIDDM in Japanese-Americans. *Diabetes*, 1996; 45 (suppl 3):S17-S18.
36. Gabbay Kenneth H. The Sorbitol Pathway and The Complications of Diabetes. *Seminars in Medicine of The Beth Israel Hospital, Boston*, 1973; 288 (16): 831-836.
37. Gilbert R.E., Goodall Y., Young V., Jerums G. Interlaboratory Variation of GHb Assays in Victoria, Australia. *Diabetes Care*, 1996; 19 (7): 730-734.
38. Gillery P, Guillemin C., Delpech M. Glycates Hemoglobin: Assay Methods and Problems of Standardization. *Ann-Biol-Clin-Paris* 1994; 52 (3): 157 - 163.
39. Giugliano Dario, Ceriello Antonio and Peolisso Giuseppe. Diabetes Mellitus, Hypertension and Cardiovascular Disease: Which Role for Oxidate Stress?. *Metabolism*, 1995; 44(3): 363-368.
40. Godsland Ian F., Stevenson Hohn C. Insulin Resistance : Syndrome or Tendency?. *The Lancet* 1995; 346 (8967): 100-103.
41. Goldstein D. E., Little R. R., Wiedmeyer H., England J. D. and McKenzie E.M. Glycosylates Hemoglobin: Methodologies and Clinical Applications. *Clin Chem.* 1986; 32(suppl): B64-70.
42. Goldstein David E., Randie Ri Little, Hsiao-Mei Wiedmeyer, Jack D. England, Curt L. Rohlfing, and Alethea L. Wilke. Is Glycohemoglobin Testing Useful in Diabetes Mellitus? Lessons from the Diabetes Control and Complication Trial. *Clin. Chem.* 1994 ; 40 (8): 1637-1639.
43. Gracey M., Kretchmer N. Diabetes mellitus No Insulino-Dependiente (Tipo II) en las Poblaciones en Vías de Urbanización. *Anales Nestlé* 1991; 49: 103-111.
44. Gray John M. R., Bates D. L., Beachman J. L. Enzyme Immunoassay- a New Technique for Estimating Hemoglobin A1c. *Clin. Chem.* 1993; 39 (4): 663 - 666.
45. Grossman David M., Doyle Gregory A., Hoeldtke Robert D. Fetal Hemoglobin and the Glycosylated Hemoglobin Assay. *Annals of Internal Medicine* 1994; 120(6) : 524.
46. Hannele Yki-Järvinen. Pathogenesis of Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *The Lancet* 1994; 343 (8889): 91 - 94.

47. Herrera Emilio. Bioquímica. Edit. Interamericana. México 1993, 44: 1046.
48. Hicks Juan José. Bioquímica e Inmunología II. Facultad de Medicina, UNAM, 1990; 135- 140.
49. Islas Andrade Sergio. Lifshitz. Diabetes Mellitus: Concepto y Clasificación. Diabetes mellitus, 1993;1:1-6. Edit. Interamericana Mc Graw Hill.
50. Islas Andrade Sergio A. Las Lipoproteínas Plasmáticas en la Diabetes Mellitus. Resúmenes de Trabajos Científicos presentados en el XIX Congreso Nacional de Bioquímica Clínica. Bioquímica 1996; 21 (2): 491.
51. Ito Hideki, et al and Multiclinical Study for Diabetic Macroangiopathy Group. Risk Factor Analyses for Macrovascular Complication in Nonobese NIDDM Patients. Diabetes, 1996 (suppl 3): S19-S23.
52. Joffe B. Y., V. R. Panz, J. R. Wing, F. J. Raal, H. C. Seftel. Pathogenesis of Non-Insulin- Dependent Diabetes Mellitus in the Black Population of Southern Africa. The lancet 1992; 340 : 460-462.
53. Kahn C Ronald. Mechanism of Insulin Action. Ann. Rev. Med., 1985. 36:429-451.
54. Karounos D. G., Wolinsky S. S. and Thomas J. W., Monoclonal Antibody to Rubella Virus Capsid Protein Recognizes a beta cell Antigen. The Journal of Immunology, 1993; 150 (7): 3080-3085.
55. Kilpatrick Eric S., Michael Small, Alan Rumley, and Marek H. Dominic Zak; Increased Fetal Hemoglobin in Insulin-Treated Diabetes Mellitus Contributes to the Imprecisión of Glycohemoglobin Measurements. Clin. Chem. 1993; 39 (5): 833- 835.
56. Kirstein M. and Vlassar H. Advanced Glycosylation Endproducts are Chemotactic for Normal Human Monocytes: Role in Diabetes and Aging. Diabetes 1989; 58: 56 A.
57. Koivisto V.A., Stevens L. K., et al. Cardiovascular Disease and its RiskFactor in IDDM in Europe. Diabetes Care 1996; 19 (7): 689-698.
58. Laaksonen David E., Atalay Mustafa, Niskanen Leo, et al. Increased Resting and Exercise Induced Oxidative Stress in Young IDDM Men. Diabetes Care 1996; 19 (6): 569-574.

59. Laurence M Demers. A Rapid, Automated Method for Glycohemoglobin. Clin. Chem. 39 (2) : 363.
60. Lebovitz Harol E. Diabetic Ketoacidosis. The Lancet, 1995; 345 (8952): 767-772.
61. Lestradet H. Tratamiento de las Complicaciones Agudas de la Diabetes. Anales Nestlé 1991; 89-102.
62. Levitt NS, Stansberry K.J., Wynchank S., Vinik A. Y. The Natural Progression of Autonomic Neuropathy and autonomic funtion test in a cohort of people with IDDM. Diabetes Care, 1996; 19 (7): 751-754.
63. Lopes-Virella María F and Virella Gabriel. Cytokines, Modified Lipoproteins, and Artriosclerosis in Diabetes. Diabetes, 1996; 45 (suppl 3):S40-S44.
64. Lyons T. J., Silvertri G., Dunn J. A., Dyer D. G. "et al " Glycosylation, Oxidation and Fluorescence in Diabetic and Senil Catarats. Diabetes 1989; 58: 26.
65. Merck. Información Teórica Sobre el Diagnóstico de Diabetes Mellitus. Merck México Reactivos 1996; 1: 2-7.
66. Microalbuminuria Collaborative Study Group, United Kingdom. Intensive Therapy and Progression to Clinical Albuminuria in Patients with Insulin Dependent Diabetes Mellitus and Microalbuminuria. BMJ, 1995; 311(7011): 973-976.
67. Mogens Lytken Larsen, M. D., Mogens Horder, MD., Erik F. Mogensen. Effect of Long- Term Monitoring of Glycosylated Hemoglobin Levels in Insulin-Depedent Diabetes Mellitus. The New England Journal of Medicine 1990; 323 (15) : 1021-1025.
68. Mogensen Carl Erick, Keane William F., Bennet Peter H., Jerums George, Parving Hans-Henrik, Passa Philippe, Steffes W. Michael. Striker E. Gary , Viberti Gian Carlo. Prevention of Diabetic Renal Disease With Special Reference to Microalbunuria. The Lancet, 1995; 346 (8982): 1080-1083.
69. Moller Niels, et al. Metabolic Effects of Growth Hormone in Humans Metabolism, 1995; 44 (10) suppl 4 : 33-36.
70. Montgomery R., Conway T., Spector A. Bioquímica. Casos y Texto. Enzimas y Catálisis Biológica. 5a. Edición. Edit. Hosby-Year Book, 1995. 117-122.

71. Murray Roberto K. Bioquímica de Harper. Edit. El Manual Moderno. 12 va. edición 1990. 162, 181, 182.
72. Nagai-M, Sakata K, Yanagawa H., Sueta H., Tanaka T., Shirahama S. Efficacy of Hemoglobin- A1c, Fructosamine and 1,5-Anhydroglucitol in Community Screening for Diabetes Mellitus. Nippon-Koshu-Eisei-Zasshi 1993; 40 (3) : 205 - 212.
73. Nathan D. M. Glycosylated Hemoglobin: A Measure of control Corin Glass Works, 1989.
74. Palomino A. A., Carrasco C. P. Hemoglobinas Glicosiladas y Control del Diabético Ambulatorio. Análisis Clínicos 1993; 32: 177- 185.
75. Polonsky, Kenneth S., Sturis Jeppe and Bell Graeme J. Non Insulin-Dependent Diabetes Mellitus- A Genetically Programmed Failure of The Beta Cell to Compensate for Insulin Resistance. Seminars in Medicine of The Beth Israel Hospital, Boston, 1996; 334 (12): 777-783.
76. Powrie J. K., Watts G.F., Ingham J.N., Taub N.A., Talmud P.J., Shaw K.M. Role of Glycaemic Control in Development of Microalbuminuria in Patients with Insulin Dependet Diabetes. BMJ, 1994; 309(6969): 1608-1611.
77. Puavilai-G., Chanprasertyotin-S, Jirapinyo-M. An Evaluation of Glycosylated Hemoglobin Measurement by a Colorimetric Method as a Screening Test for Gestational Diabetes Mellitus. J-Med-Assoc-Thai 1993; 76 (10). 539 - 549.
78. Raccah Denis, et al. Erythrocyte Na⁺-K⁺-ATPase Activity, Control Metabolic, and Neuropathy in IDDM Patients. Diabetes Care, 1996; 19(6): 564-568.
79. Ronald H. Ng., Katherine M. Sparks and Charles E. Hiar; Rapid Automates Immunoassay System for Measuring Hemoglobin A1c by Using Precalibrated, Unitized Reagent Cartidges. Clin. Chem. 1992; 38 (9): 1647.
80. Rosales Navarro Julieta. Tesis: Prevalencia de la Diabetes Mellitus y Factores de Riesgo Coronario Asociado en Poblaciones de la Ciudad de México. Cap. III, Lípidos y Lipoproteínas en la Diabtes Mellitus. UNAM, 1995.
81. Silanes. Actualidades en Diabetes. Lab. Silanes 1996; 1: 3-7.
82. Silanes. Actualidades en Diabetes. Lab. Silanes 1996; 2: 3-7.

83. Silanes. Actualidades en Diabetes. Lab. Silanes 1996; 3: 3-7.
84. Silanes. Actualidades en Diabetes. Lab. Silanes 1996; 4: 3-7.
85. Silanes. Actualidades en Diabetes. Lab. Silanes 1996; 5: 3-7.
86. Singer D. F., Coley Ch. M., Samet H. y Nathan D. M. Tests of Glycemia in Diabetes Mellitus their Use in Establishing a Diagnosis and in Treatment. *Annals of Internal Medicine* 1989;110 (2): 125-135.
87. Speicher Carl E. Elección de Pruebas de Laboratorio. Barcelona, España, 1992. Ediciones DOYMA. p.p.152-158.
88. Tack C.J.J., Wetzels J.F.M. Decreased HbA1c Levels Due to Sulfonamide-Induced Hemolysis in Two IDDM Patients. *Diabetes Care*, 1996; 19 (7): 775-776.
89. Tietz, Norbert W. Química Clínica Moderna. Edit. Interamericana, 1972. pp.729, 736-738, 748-750.
90. Tiran A., Pieber T., Tiran B., Halwachs Baumann G., Dobning-H., Grubelning H., Wilders Truschning M. M. Automated Determination of Glycated Hemoglobin: Comparative Evaluation of Five Assay Systems. *J-Clin-Lab- Anal* 1994; 8 (3) : 128
91. Turpeinen Ursula, Karjalainen Ulla, and Stenman Ulf-Hakan. Three Assays for Glycohemoglobin Compared. *Clinical Chemistry*, 1995; 41 (2): 191-195.
92. Tusié Ma. Teresa. Genética y Diabetes Mellitus II. Curso de Diabetes Mellitus para Graduados. Clínica Londres 1996.
93. Uribe Esquivel. Diabetes Mellitus: Clasificación, Diagnóstico, Patogenia y Tratamiento. *Endocrinología, Nutrición y Enfermedades Metabólicas. Tratado de Medicina Interna.* Edit. Panamericana, 1995; 138: 514 -528.
94. Uribe Esquivel. Diabetes Mellitus: Complicaciones Crónicas. *Endocrinología, Nutrición y Enfermedades Metabólicas. Tratado de Medicina Interna.* Edit. Panamericana, 1995; 139: 529-538.
95. Weetman Anthony P. Autoimmune Endocrine Disease. Cambridge University Press, 1991; 174-197.
96. Willis Andrew, Colin Tobitt, Shirley Jones, Huw Griffiths. Measuring Glycated Haemoglobin. *BMJ* 1994; 305 : 1020.

97. Youngren Jack F Goldfine Ira. The Molecular Basis of Insulin Resistance. Science & Meedicine, 1997. May/June: 18-27.
98. Ziel Frederick H. and Davidson Mayer B. The Role of Glucosylated Serum Albumin in Monitoring Glycemic Control in Stable Insulin-Requiring Diabetic Out-Patients. Journal Clinical and Metabolism, 1987; 64 (2): 269- 273.