

S U M A R I O



REVISIONES

Trasplante de islotes pancreáticos y de células diferenciadas a partir de células madre
B. Soria (pág. 121)

Criterios diagnósticos de la diabetes mellitus: Un debate permanente
M. Aguilar (pág. 133)

Estado actual de la prevención de la diabetes mellitus tipo 1
D. Mauricio (pág. 145)

ORIGINAL

Polimorfismo genético de la ECA y su asociación con la presencia de albuminuria en la población con diabetes mellitus tipo 2
J.A. Rubio, M.A. Rubio, J. Alvarez, E. Cancér (pág. 156)

Avances en Diabetología

ÓRGANO DE EXPRESIÓN DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE DIABETES

Vol. 17 Núm. 3

Julio-Septiembre 2001

EDITOR JEFE

Eduardo Faure Nogueras, Zaragoza

COMITÉ EDITORIAL

Federico Casimiro-Soriger Escofet, Málaga
Sonia Gaztambide Alonso, Madrid

Ramón Gomis de Bárbara, Barcelona
Wilfredo Ricart Engel, Girona

Bernat Soria Escoms, Alicante
Isabel Valverde Alonso, Madrid

COMITÉ ASESOR

Jaime Antona, Madrid
Pablo Aschner Montoya, Bogotá
José J. Barbosa, Minneapolis
Michael Berger, Düsseldorf
Enrique Blázquez Fernández, Madrid
José Cabezas, Santiago de Compostela
Rolando H. Calderón, Lima
Consuelo Calle, Madrid
José Caro, Greenville
Hermenegildo de la Calle, Madrid
Alberto de Leiva, Barcelona

Francisco Díaz Cadórniga, Oviedo
Santiago Durán, Sevilla
Arturo Fernández Cruz, Madrid
Julio Freijanes, Santander
Frederic Goetz, Minneapolis
Ira D. Goldfine, San Francisco
Ricardo Güel, La Habana
Juan José Gagliardino, La Plata
José Luis Herrera Pombo, Madrid
Pierre J. Lefebvre, Lieja
José Luis Medina, Oporto

José Moreiro, Palma de Mallorca
Ingrid Mühlhauser, Düsseldorf
Luciano Muñoz Barragán, Salamanca
Neus Potau, Barcelona
José María Pou, Barcelona
José Luis Rodríguez-Miñón, Madrid
Enrique Rojas Hidalgo, Madrid
Maximino Ruiz, Buenos Aires
Manuel Serrano Ríos, Madrid
Isabel Valverde, Madrid
José Antonio Vázquez, Bilbao

JUNTA DIRECTIVA DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE DIABETES

Presidente

Bernat Soria, Alicante

Vicepresidente 1º

Ricardo V. García-Mayor, Vigo

Vicepresidente 2º

Hermenegildo Calle, Madrid

Secretaria

Pilar Manzano, Madrid

Vicesecretario

Ignacio Conget, Barcelona

Tesorero

Dídac Mauricio, Badalona

Bibliotecario

Elías Delgado, Oviedo

Vocales

Francisco Javier Novoa, Las Palmas

Miguel Catalá, Valencia

Teresa Iglesias, La Coruña

José Ortego, Cádiz

Internet: <http://www.nhcg.es/sed>



Arboleda, 1 - 28220 Majadahonda (Madrid)
Tel. 91 636 29 30 - Fax 91 636 29 31
ergon@ergon.es

Publicación trimestral

Depósito Legal: M-17915-1988

ISSN: 1134-3230

Copyright 2002

Sociedad Española de Diabetes
Ediciones Ergon S.A.

Impreso en papel libre de ácido

INFORMACIÓN PARA LOS AUTORES

GENERAL INFORMATION

Avances en Diabetología publishes articles of clinical or experimental interest related to research on diabetology or similar fields. Articles will be examined by the Editorial Boards and referees that the Board considers to be appropriate on the basis of the following kind of publications:

Original Articles, not exceeding eight printed pages, or 7.000 words including text, literature cited, and two illustrations (Tables and Figures).

Short Communications, not exceeding two printed pages, or 1.700 words including text, literature cited and illustrations (Tables and Figures).

Letters to the Editor, not exceeding one page or 1.000 words including text, literature cited and one illustration, (Table or Figure).

Review articles, requested by the Editor from workers considered experts in the fields that are able to provide ideas or points on current topics of relevance.

Avances en Diabetología will not publish papers previously published or under consideration for publication. An Original and two copies should be set to:

Dr. José Enrique Campillo Alvarez, Editor of "Avances en Diabetología", Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Extremadura, 06071 Badajoz. Manuscripts should be typed double space on one side only of the sheets with a margin of 3 cm at the left. Articles should be accompanied by a cover letter from the one of the authors to the effect that the coauthors agree to its publication regarding the form and contents sent to the Editor.

SPECIFIC INFORMATION REGARDING PREPARATION OF THE ARTICLES

The first page on the article should specify the title of the work, the authors' names (name and surname) and the institution where the work has been carried out. A running title should also appear at the top of all pages of the m.s.

The second page should include a summary in Spanish and English of not more than 250 words, clearly and concisely describing the work carried out, the main results and the conclusions inferred. Following this should appear 5-10 key words related to the principal topics of the work.

The third page should start the text of the m.s. developed as follows: Introduction; Materials and Methods; Results; Discussion, and Literature Cited. The introduction should clearly describe the reasons for conducting the research, avoiding details to concerning the results and conclusions. Materials and Methods should be described in such a way that the can be reproduced by other workers. Results should not be repeated in tables and figures and should be clear enough to avoid discussions or comments. If considered appropriate, the Editor should be informed as to whether the authors feel the figures or tables should appear in the work in the margin of the m.s.

The Discussion should offer an interpretation of the results according to knowledge related to the field of work, but avoiding speculations or repetition of what has appeared in the Results section. The final conclusions should be summarized in the last paragraph of the paper.

The sections on Results and Discussion can be combined, specially in the case of short communications.

LITERATURE CITED

The references should be numbered consecutively in the same order as they appear in the text. When they are cited for the first time in the tables or figures, they should be numbered and their order should be respected in subsequent references in the text. The style and presentation of the references should be in accordance with those used in Index Medicus; the following are examples:

1. Wolff JA, Yee JK, Skelly HF, Moores JC, Respass JG, Friedmann T, Leffer H. Expression of retrovirally transduced genes in primary cultures of adult rat hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; **84**: 3344-3348.
2. Moody AJ, Thim L. Glucagon, gly cetin and related peptides. In: Lefebvre PJ, ed. *Glucagon*, Berlín: Springer Verlag, 1983; **1**: 139-174.
3. Leyva A. Caracterización de los estados precoces de las diabetes mellitus. *Av Diabetol* 1988; **1**: 39-53.

TABLES

The tables should be drafted double space on separate pages and identified in arabic numbers. Each table should be accompanied by its corresponding legend. A high number of data is recommended.

ILLUSTRATIONS

Figures should be presented professionally and presented in the form of black and white photographs. Symbols, letters and numerals should be continuous and clear and sufficiently large for easy reading after the corresponding size reduction prior to reproduction. If photographs of patients are used the latter should be unrecognizable. Legends to the illustrations should be typed double space on a separate sheet. Exceptionally, colour illustrations will be published; the cost of these will be charged to authors.

ABBREVIATIONS

Except in the case of units of measurement, abbreviations should be avoided. However, where they are preferred they should appear preceded by the full name.

NAMES OF DRUGS

In general the generic name should be used although, if so desired, to use the commercial name in brackets just after this.

AUTHORIZATION

If authors wish to use material from other publications, this should be accompanied by written consent from the original author and Editorial Board to do so.

REFEREEING OF ARTICLES

The m.s. will be reviewed by the Editorial Board and anonymous referees. If a paper returned for amendments is not received within three months of its return date it will be considered as a new m.s.

Avances en Diabetología

ORGANO DE EXPRESION DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE DIABETES

Vol. 17 Núm. 3

Julio-Septiembre 2001

SUMARIO

REVISIONES

- Trasplante de islotes pancreáticos y de células diferenciadas a partir de células madre
B. Soria 121
- Criterios diagnósticos de la diabetes mellitus: Un debate permanente
M. Aguilar 133
- Estado actual de la prevención de la diabetes mellitus tipo 1
D. Mauricio 145

ORIGINAL

- Polimorfismo genético de la ECA y su asociación con la presencia de albuminuria en la población con diabetes mellitus tipo 2
J.A. Rubio, I.A. Rubio, J. Alvarez, E. Caceres 156

INFORMACIÓN PARA LOS AUTORES

INFORMACIÓN GENERAL

Avances en Diabetología publica artículos de interés clínico o experimental relacionados con la investigación diabetológica o de campos afines a ella, en castellano y preferentemente en inglés. Los artículos serán considerados por el Comité Editorial y por los evaluadores que éste considere oportunos, de acuerdo con los siguientes tipos de publicaciones:

Artículos originales, que no excedan de ocho hojas impresas o un máximo de 7.000 palabras que incluyan texto, bibliografía, tablas y figuras.

Comunicaciones rápidas, con un máximo de dos páginas impresas o 1.700 palabras incluyendo texto, bibliografía y dos ilustraciones (tablas o figuras).

Cartas al Editor, que no excedan de una página o 1.000 palabras, incluyendo texto, bibliografía y una ilustración (tabla o figura).

Artículos de Revisión, que serán solicitados por el Editor a aquellos especialistas que por sus conocimientos y experiencia puedan proporcionar ideas de conjunto o puntos sobre temas de actualidad o de gran interés general.

Avances en Diabetología, no publicará trabajos que hayan sido impresos con anterioridad o que simultáneamente estén siendo considerados para algún tipo de publicación. Original y dos copias de los artículos (incluyendo tablas y figuras) se enviarán a la siguiente dirección:

Dr. Eduardo Faure Nogueras, Editor de Avances en Diabetología, (Ediciones Ergon, S.A. Arboleda, 1 - 28220 Majadahonda. Madrid). Los manuscritos deben ser mecanografiados a doble espacio sobre una carilla de la hoja y con un margen de 3 cm. en la parte izquierda de la misma.

Los artículos deberán ir acompañados de una carta firmada por uno de los autores en la que testifique que los demás coautores del trabajo están de acuerdo con su publicación en la forma y contenido enviado al Editor.

INFORMACIÓN ESPECIFICADA PARA LA ELABORACIÓN DE LOS ARTÍCULOS

La primera página del manuscrito constará del título del trabajo, nombres de los autores (nombre y primer apellido completos) y de la institución donde se ha realizado. Asimismo, se incluirá un título reducido para imprimir en la cabecera de las hojas interiores del artículo.

En la segunda página se incluirá el resumen, que no excederá de 250 palabras y en el que se describirán de una forma clara y concisa los estudios

realizados, hallazgos fundamentales y conclusiones alcanzadas. Al final del resumen se incluirán de 5 a 10 palabras claves, que definan la temática fundamental del trabajo. También se incluirá una traducción del resumen en lengua inglesa.

A partir de la tercera página, el artículo se describirá de acuerdo con los siguientes apartados:

Introducción, Materiales y Métodos, Resultados, Discusión y Bibliografía. En la introducción se describirán de una forma clara las razones por las cuales se ha realizado el trabajo, evitando comentarios acerca de los hallazgos y conclusiones obtenidas. Los Materiales y Métodos utilizados se presentarán de forma que puedan ser reproducidos por otros investigadores. Los Resultados no podrán presentarse simultáneamente en una tabla y una figura y se describirán de forma clara, pero sin comentarios o discusiones de ellos. Cuando se considere oportuno, podrá indicársele al Editor en qué lugar se deben reproducir las tablas o figuras, mediante una indicación en el margen correspondiente del manuscrito. En la Discusión se deberán interpretar los resultados en función de los conocimientos propios del campo científico objeto del trabajo, evitándose las especulaciones o la repetición de lo descrito en los Resultados. La conclusión final deberá incluirse en el párrafo final del manuscrito. Los Resultados y Discusión pueden presentarse juntos, especialmente en las Comunicaciones Rápidas.

BIBLIOGRAFÍA

Las referencias deben ser numeradas consecutivamente en el mismo orden que han sido citadas en el manuscrito. Cuando las referencias se citen primero en las tablas o figuras deben ser numeradas, respetándose este orden en relación con las que se citen con posterioridad en el texto. El estilo y presentación de las referencias debe estar de acuerdo con el utilizado por el Index Medicus. Como ejemplo de ellas citamos las siguientes:

1. Wolff JA, Yee JK, Skelly HF, Moores JC, Respass JG, Friedmann T, Leffer H. Expression of retrovirally transduced genes in primary cultures of adult rat hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; **84**: 3344-3348.
2. Moody AJ, Thim L. Glucagon, gly cetin and related peptides. In: Lefebvre PJ, ed. Glucagon, Berlín: Springer Verlag, 1983; **1**: 139-174.
3. Leyva A. Caracterización de los estados precoces de las diabetes mellitus. *Av Diabetol* 1988; **1**: 39-53.

No se aceptarán citas relacionadas con: comunicaciones personales, datos no publicados, ma-

nuscritos en preparación o enviados para su publicación. No obstante, si se considera esencial, ese material se puede incluir en el lugar apropiado del texto, detallando su interés y contenido.

TABLAS

Las tablas se mecanografiarán a doble espacio, en páginas separadas e identificables con números arábigos. Cada una de ellas debe poseer su correspondiente leyenda. Se recomienda la presentación de un número elevado de datos.

ILUSTRACIONES

Las figuras deben ser diseñadas profesionalmente y presentadas como fotografías en blanco y negro. Los símbolos, letras y números deberán tener un trazado continuo y claro y con un tamaño lo suficientemente grande para que sea legible después de la reducción correspondiente a su incorporación en las páginas de la revista. Si se utilizan fotografías de pacientes debe ser evitada su identificación. Las leyendas de las ilustraciones deben mecanografiarse a doble espacio, en una hoja aparte.

Excepcionalmente se publicarán ilustraciones en color, y cuando esto ocurra los costos para su reproducción correrán a cargo de los autores.

ABREVIACIONES

Excepto para las unidades de medida, no se aconseja el uso de las abreviaciones. Sin embargo, en el caso de que se utilicen, la primera vez que se citen, deben ir precedidas de las palabras que representan.

DENOMINACIONES PARA DROGAS

En general se deben utilizar los nombres genéricos, pero si los autores lo desean pueden insertar en paréntesis y a continuación los nombres comerciales.

AUTORIZACIONES

En aquellos casos en que se utilicen materiales procedentes de otras publicaciones, éstos se deben acompañar del permiso, escrito de su autor y de la Editorial correspondiente, autorizando su reproducción en nuestra revista.

REVISIÓN DE LOS ARTÍCULOS

Los manuscritos serán revisados por el Comité Editorial y evaluadores/as anónimos/as. Si un artículo enviado a los autores para su modificación, no se recibe en la Editorial en un período de tres meses, se considerará a su llegada como un nuevo manuscrito.

Trasplante de islotes pancreáticos y de células diferenciadas a partir de células madre

B. Soria

Instituto de Bioingeniería, Universidad Miguel Hernández, 03550 San Juan, Alicante.

Correspondencia: Dr. Bernat Soria, Instituto de Bioingeniería, Facultad de Medicina, Universidad Miguel Hernández, Campus de San Juan, Carretera Alicante-Valencia Km 87. 03550, Alicante. e-mail: bernat.soria@umh.es

1. INTRODUCCIÓN

Las complicaciones a largo plazo de la diabetes mellitus (retinopatía, nefropatía, neuropatía, etc) afectan a un 5-10% de los pacientes diabéticos. La prevalencia de dichas complicaciones, junto con la disminución en la calidad de vida y los altos costes (directos e indirectos) asociados han motivado la búsqueda de alternativas terapéuticas. En este sentido, el DCCT⁽¹⁾ ha sido determinante acerca del efecto beneficioso de un control más estricto de la glucemia con la terapia intensiva con insulina. Asimismo, las nuevas insulinas, nuevas formulaciones y vías de administración y el uso de bombas de insulina permiten acercarse al desideratum de un control fisiológico de la glucemia. Sin embargo, sólo el trasplante de células productoras de insulina procedentes de donantes conlleva la independencia del tratamiento insulínico y, puede suponer la curación de la diabetes tanto para los diabéticos tipo 1, cómo para muchos pacientes tipo 2. La carencia de donantes, incluso en un país cómo España, junto con los efectos colaterales de la inmunosupresión limita en la actualidad el potencial terapéutico de estas técnicas. El objetivo de este artículo es comentar la situación en la que se encuentra el trasplante de islotes pancreáticos, junto con las alternativas que de forma experimental se están estudiando, fundamentalmente el uso de células madre.

2. TRASPLANTE DE ISLOTES PANCREÁTICOS

El alotrasplante de islotes pancreáticos ha sido propuesto como una técnica que permite la curación de la diabetes. La simplificación del procedimiento quirúrgico, comparado con el trasplante de páncreas, así cómo la posibilidad de realizar trasplantes sucesivos (hasta dos o tres) en el mismo paciente, en función de sus necesidades ha estimulado los esfuerzos en esta dirección. Entre 1990 y 2000, a 495 diabéticos tipo 1 se les realizó un trasplante de islotes⁽²⁾. De estos, 140 fueron autotrasplantes y el resto alotrasplantes. Si se consideran aparte los autotrasplantes con más de 300.000 islotes trasplantados* (en los que se registró un porcentaje del 71% de independencia de insulina para períodos superiores a doce meses), la esperanza de alcanzar la curación mediante este procedimiento no ha sido alcanzada. En el caso de los alotrasplantes un 19% eran independientes de insulina durante más de siete días y sólo un 9% por un período superior a 12 meses. Cifras muy inferiores a las del doble trasplante riñón-páncreas que, a pesar de su mayor complejidad quirúrgica y del uso de inmunosupresores convencionales, alcanza un éxito del 80%.

a) ¿Por qué no funcionan los alotrasplantes?: El Protocolo de Edmonton

Los islotes son obtenidos del pán-

*Dado que los islotes humanos son muy variables en su tamaño, se viene utilizando el IEQ o equivalentes de islotes, este índice se obtiene sumando los diversos diámetros de islotes y dividiendo por su valor promedio 150 μ m).

creas de un donante e inyectados en la vena porta del paciente con el fin de que se implanten en el hígado. Debido al número limitado de islotes que se obtienen de un solo donante, el procedimiento debe repetirse dos o tres veces en función del peso del paciente. Requiere hospitalizaciones breves por un período de dos o tres meses. Shapiro y cols.⁽³⁾ exploraron las causas por las que el trasplante de islotes sólo tenía éxito en el 10% de los pacientes. Encontraron las siguientes explicaciones: i) masa insuficiente de islotes trasplantados, ii) efectos lesivos de los inmunosupresores y iii) escasa viabilidad del material trasplantado.

- El páncreas de un adulto contiene aproximadamente un millón de islotes, mediante los procedimientos habituales de obtención de islotes pueden recuperarse entre 300.000 y 500.000 islotes, lo que supone una pérdida de más de la mitad de los islotes que el páncreas donante contiene. Para que el trasplante funcione y se observe independencia de insulina para un período de al menos doce meses hay que trasplantar una cantidad de aproximadamente 10.000 islotes/kg de peso, es decir entre 700.000 y 900.000 islotes. Para alcanzar estas cifras Shapiro y cols.⁽³⁾ realizan dos o tres trasplantes sucesivos en el mismo paciente. Este procedimiento, aparte de la dificultad que supone, ha permitido observaciones adi-

cionales. Por ejemplo, parece ser que el segundo trasplante se acepta mejor que el primero; de alguna forma los islotes del primer donante establecen una situación beneficiosa con vistas al segundo trasplante.

- En la mayoría de los trasplantes recogidos en el Registro Internacional de Trasplantes de Islotes⁽²⁾ el régimen inmunosupresor consistió en la inducción de anticuerpos con una globulina antilinfocítica combinado con ciclosporina, azatioprina y glucocorticoides. La ciclosporina posee efectos lesivos sobre los islotes⁽⁴⁾ y los esteroides son diabéticos. Shapiro y cols desarrollaron un protocolo inmunosupresor libre de corticoides. Dicha estrategia combina sirolimus, tacrolimus y un anticuerpo monoclonal contra el receptor de la interleukina-2 (dacizumab)⁽³⁾.
- Con el fin de aumentar la viabilidad de los islotes, se trasplantaron inmediatamente, con lo que el tiempo de isquemia fría fue siempre inferior a 8 h. Con posterioridad estos autores han incorporado el «índice isquémico»* que incorpora el tiempo de isquemia fría y la cantidad de islotes obtenidos. Dicho índice se correlaciona bien con el éxito terapéutico⁽⁵⁾.

b) Métodos para la obtención de islotes pancreáticos

Los islotes pancreáticos están in-



Figura 1. Cámara de Ricordi.

mersos en el páncreas exocrino formando un archipiélago tridimensional. Aunque están más profusamente vascularizados que el resto del páncreas y mantienen una cierta relación de proximidad con el tejido ductal del que proceden hasta el momento no se han desarrollado métodos eficientes de separación y purificación. Cuando se precisan pocos islotes, como ocurre en el caso de las técnicas electrofisiológicas⁽⁶⁾ la microdissección es una buena alternativa. Sin embargo, cuando se precisa de la preparación masiva de islotes (300-400.000 islotes por donante, es decir 30-50% del total) se recurre al uso de enzimas como la colagenasa que al digerir el colágeno que sirve de soporte al tejido pancreático disgrega las estructuras y permite su separación mediante gradientes de Ficoll, que separan en función de la densidad. Ricordi y cols.⁽⁷⁾ diseñaron un procedimiento mixto que combina la digestión química con procedimientos mecánicos (Fig. 1). Igual que les ocurría a quienes pretendían purificar la insulina (antes de que lo lograsen Banting y Best) el islote es difícil de separar del páncreas exocrino y algunos autores han postulado que en el binomio riqueza de islotes / pureza de la preparación, es más

*Shapiro y cols.⁽⁵⁾ han introducido un nuevo índice, el «índice isquémico». Este índice incorpora el tiempo de isquemia fría y el número de islotes que recibe el paciente. Por ejemplo, si se obtienen 200.000 islotes y se mantienen 5 horas en isquemia fría el índice isquémico es 40 (200.000 / (1000 x 5)). La obtención del doble de islotes (400.000) pero con una isquemia de 10 h nos daría, por lo tanto, el mismo índice isquémico.

adecuado decantarse por la riqueza. Es más, si se analiza el tejido que el grupo de Edmonton trasplanta se observa que un 20% aproximadamente es tejido ductal (marcaje positivo a citokeratina 7), lo que abre nuevos interrogantes acerca del comportamiento fisiológico y maduración del tejido en el huesped⁽⁸⁾.

La figura 1 muestra una fotografía de la Cámara de Ricordi. La cámara, sometida a una agitación constante y controlada está conectada a un sistema de perfusión continua⁽⁷⁾. Aunque es un procedimiento automatizado, Jonathan Lakey⁽³⁾ prefiere la agitación manual. Mientras se está realizando la digestión se controla periódicamente, mediante la tinción con ditizona, el nivel de pureza y riqueza de la preparación. A diferencia de lo que ocurre con el animal de laboratorio que está perfectamente estandarizado en términos de edad, características, físicas, etc. el donante humano muestra una gran variabilidad en las características físicas del tejido, edad del donante, etc. Todo esto hace que sea bastante más difícil sistematizar un método en términos de concentración de enzima, duración del proceso, intensidad de la agitación, etc.

La variabilidad en la actividad de los preparados enzimáticos es una de las dificultades del procedimiento. Más recientemente se ha introducido un nuevo preparado enzimático, la liberasa, que en comparación a la colagenasa P, utilizada previamente, genera un mayor rendimiento en la cantidad y calidad de islotes⁽⁹⁾. Los islotes obtenidos mediante dicho procedimiento eran de mayor tamaño y de mejor aspecto.

c) Perfil del diabético tipo 1 candidato a trasplante

Aunque estemos sometidos a una gran presión por parte de quienes aspiran a una curación definitiva para su enfermedad no hay que olvidar que en los últimos tres cuartos de siglo la diabetes tipo 1 se ha venido tratando con insulina. Además, se dispone de nuevas insulinas y nuevas fórmulas de administración que van a ir permitiendo que nuestros pacientes disminuyan y hasta evitar las complicaciones y alcanzar un estándar aceptable en su calidad de vida. La dependencia de insulina es una pesada carga psicológica y social, pero no hay que olvidar que la inmunosupresión también tiene sus riesgos. Existe, no obstante, un porcentaje de pacientes que desarrollan una diabetes inestable, con fuertes oscilaciones de las cifras de glucemia o que, por su neuropatía, desarrollan con frecuencia crisis de hipoglucemias no percibidas, nocturnas, etc. En estos casos existe un riesgo vital superior a los (potenciales) efectos secundarios de la inmunosupresión. Este es el perfil de quienes pueden en este momento entrar en un programa de trasplante de islotes. Por otra parte, es de esperar que a la larga se mejoren los protocolos de trasplante. Por ejemplo, en este momento se dispone de más de 150 nuevas moléculas inmunosupresoras, por lo que es muy probable que puede ser posible disponer de una combinación más adecuada de inmunosupresores cuyos efectos secundarios sean compatibles con los tratamientos prolongados necesarios en este tipo de trasplantes. Además, las posibilidades que se están explorando para la inducción de tolerancia inmunológica, justifican que se

mantenga y estimule esta opción terapéutica.

d) Futuro de los Trasplantes de Islotes Pancreáticos

Aunque siempre es arriesgado hacer predicciones en ámbitos donde la tecnología biomédica nos sorprende a menudo, es lícito identificar donde se encuentran las principales dificultades con el fin de explorar posible soluciones.

1. Los pacientes con nefropatía subsidiaria de diálisis funcionan más adecuadamente con un trasplante doble de páncreas y riñón. Esta técnica, no exenta de riesgos, tiene un 80% de éxitos (independencia de insulina) y está plenamente justificada. Es necesario instar a las distintas administraciones sanitarias y a nuestros colegas cirujanos para que el doble trasplante de páncreas y riñón sea una técnica accesible, más aún cuando en España se vienen obteniendo suficientes órganos. El trasplante de órgano entero tiene unos peores resultados. Por último, el trasplante parcial de páncreas «intervivos», de discutible justificación ética, sólo se realiza en algún hospital de EE.UU.
2. El alotrasplante de islotes pancreáticos está justificado en ese momento en aquellos pacientes diabéticos cuyo riesgo vital es superior a los efectos secundarios de los inmunosupresores. Las estrategias para mejorar este procedimiento terapéutico deben ir dirigidas a: mejorar la obtención de islotes en términos cualitativos y cuantitativos, disminuir los efectos secundarios de los protocolos de inmunosupre-

sión y avanzar en las pautas para inducir tolerancia al trasplante.

3. El autotrasplante de islotes pancreáticos, con un 71% de éxito cuando se trasplantan más de 300.000 islotes, debería ser una técnica accesible en aquellos casos en los que se necesita de la resección pancreática total y se desea evitar la diabetes yatrogénica.
4. Se necesita investigar las razones por las que el doble trasplante de órgano entero funciona mejor, a pesar de los inmunosupresores, que el de islotes. La revascularización del islote como microórgano no ha sido convenientemente estudiada. Por otra parte, el hecho demostrado de que el alotrasplante requiera del doble de islotes que el autotrasplante es indicativo del ataque temprano que los islotes trasplantados sufren.

3. APLICACIONES CLÍNICAS DE LAS CÉLULAS MADRE

España posee la cifra de donantes de órganos más alta del mundo (aproximadamente 34 donantes/millón de habitantes, es decir, se podría disponer de unos 1350 páncreas por año). Pero, incluso si se alcanza el objetivo de normalizar la glucemia de un paciente tipo 1 con un solo donante (y no con los dos o tres que ahora mismo son necesarios) nunca dispondremos de bastantes donantes como para tratar a los 100.000 diabéticos tipo 1 que se estima hay en nuestro país. Es más no tenemos bastantes órganos para el ritmo de pacientes que se diagnostican con diabetes tipo 1 cada año (aproximada-

mente 2000 de entre la población de menores de 30 años). En conclusión, sólo si somos capaces de generar nuevas células beta dispondremos de bastante material para atender las necesidades de nuestros pacientes. En este punto la Ingeniería Celular con células madre puede ser de gran utilidad.

a) ¿Qué es una célula madre?

Las células madre o células troncales («stem cells») son células que poseen la doble propiedad de poder regenerarse a sí mismas o de diferenciarse en otros tipos celulares⁽¹⁰⁾. Las células madre embrionarias, procedentes de la masa celular interna del blastocisto, son las más características. En experimentos que por razones obvias nunca podrán ser contrastados en humanos, se ha podido comprobar que dichas células son totipotenciales. Es decir, que pueden dar lugar a «cualquier tipo celular» presente en un individuo adulto. Para ello se introdujo una de estas células en la masa celular interna de un blastocisto. Pudo observarse que la químera (mezcla de células de dos individuos) poseía descendientes de la célula introducida en cualquiera de sus tejidos, incluida la línea germinal. Es decir, a partir de las células madre embrionarias puede obtenerse cualquiera de los tipos celulares del individuo adulto, son por lo tanto, células totipotenciales. Cuando una célula madre puede diferenciarse en varios tipos se dice que es pluri- o multipotencial. Las células ductales (progenitoras del páncreas endocrino) pertenecen a este grupo. En algunos casos existen células madre cuya diferenciación está comprometida hacia un solo tipo ce-

lular, en este caso se habla de células unipotenciales.

b) Fuentes de Células Madre

Los ejemplos más obvios de células madre proceden del desarrollo embrionario. En los adultos la situación es distinta. La capacidad de regeneración tisular en los organismos adultos está ampliamente representada en los seres vivos. Las plantas poseen células madre capaces de regenerar la totalidad del individuo (como muchos jardineros aficionados conocen). La palabra clón procede del griego y significa esqueje, se introdujo en biología para identificar a grupos celulares o individuos con idéntica dotación genética. El reino animal también está repleto de ejemplos de regeneración tisular. Los anfibios, algunos reptiles y muchos crustáceos pueden regenerar el miembro amputado. Sin embargo, esta propiedad parece haberse perdido en los mamíferos. No obstante, en los individuos adultos hay tejidos sometidos a una renovación constante, como la piel, el epitelio intestinal o el corneal. Otros tejidos pueden regenerarse si sufren una lesión, como es el caso del hígado. Es decir, que en dichos tejidos deben existir células madre con capacidad para diferenciarse en otros tipos celulares. Hasta hace un par de años se pensaba que las células madre del adulto estaban comprometidas en sus posibilidades y «sólo podían dar lugar a los tipos celulares a los que servían». Sin embargo, desde el descubrimiento de la oveja Dolly⁽¹¹⁾, que nos ha enseñado que la información contenida en el núcleo de una célula adulta puede ser reprogramada, un nuevo paradigma se ha incorporado a la biología celular. En los últimos dos años

se han sucedido una serie de trabajos que viene a demostrar que las células de los tejidos adultos pueden transdiferenciarse en células de otros tejidos. Por ejemplo, células nerviosas pueden transformarse en células sanguíneas y colonizar la médula ósea. Para una revisión ver Berná y cols⁽¹²⁾.

La dimensión clínica de estas observaciones aún no ha podido ser demostrada. Entre otras cosas cabe preguntarse ¿por qué dicha transdiferenciación no ocurre cuando se pierde la población celular beta en el debut de la diabetes tipo 1?. ¿Por qué otras células de idéntico origen endodérmico no ocupan dicho lugar?. Es más, ya sabemos que dicho camino puede ser recorrido, pero ¿tienen alguna trascendencia clínica estas observaciones?. ¿Podremos generar una masa suficiente de tejido como para poder utilizarlo en terapia celular?.

c) Obtención «in-vitro» de células beta pancreáticas

Un objetivo prioritario en la terapia celular de la diabetes mellitus es la obtención de células beta mediante técnicas de ingeniería celular. El grupo de Ingeniería Celular y Tisular del Instituto de Bioingeniería ha desarrollado un método para la obtención de células que contienen y liberan insulina a partir de células embrionarias de ratón^(10, 13). El procedimiento se desarrolla en tres pasos: diferenciación in vitro, selección clonal y maduración.

1. **Diferenciación «in-vitro»:** Las células madre embrionarias de ratón se mantienen indiferenciadas gracias la presencia de una citokina, el factor inhibidor de la leucemia (LIF). En estas circunstancias está

activada la expresión de genes como el Oct3/4⁽¹⁴⁾ y el «kaune nuss»⁽¹⁵⁾, que junto con otros mecanismos aún desconocidos mantienen la totipotencialidad y la capacidad de renoverse a si mismas. Aunque hay diferencias interespecíficas (por ejemplo, el LIF no es necesario en el caso de las células embrionarias humanas) deben de existir mecanismos similares para un fenómeno tan universal. Una célula totipotencial es una célula que aún puede expresar todos sus genes. Durante el proceso de diferenciación se irán silenciando genes y sólo algunos de ellos podrán expresarse en un tipo celular. El mecanismo de silenciamiento de genes debe implicar una modificación del material genético que hasta hace poco se consideraba irreversible. La metilación de la citosina del ADN es uno de los mecanismos propuestos, aunque no hay que descartar otros como la acetilación de las histonas o el plegamiento del DNA. En ausencia de LIF las células embrionarias de ratón empiezan a diferenciarse de forma espontánea. Los derivados ectodérmicos como células precursoras neurales o del mesodermo como la serie hematopoiética son los primeros en aparecer. No así los derivados del endodermo y el páncreas es un derivado del endodermo. La presencia de células positivas a insulina o a glucagón es inferior al 1%⁽¹⁰⁾. Incluso en estas condiciones, si se dispone de un buen sistema de selección clonal es posible obtener poblaciones celulares que expresen insulina. El principal es-

fuerzo en este sentido debe ser intentar forzar la diferenciación hacia células que sean positivas a insulina, a pdx-1 y/o a Nkx6.1, todos ellos marcadores de célula beta. La estrategia utilizada consiste en añadir factores de crecimiento, aunque hasta el momento los resultados son negativos^(16, 17).

2. **Selección clonal:** Incluso en el supuesto de que se obtenga una población enriquecida de células positivas a insulina y a marcadores de células precursoras de células endocrinas pancreáticas, hay que trabajar con una preparación purificada de células. Nadie desea implantar células beta mezcladas con otros tipos celulares cuya fisiología se desconoce o que incluso pueden acabar dando teratomas. Para ello hay que disponer de un sistema eficiente de selección. Nosotros hemos publicado un sistema de selección que permite obtener células que sintetizan insulina⁽¹³⁾. Para ello las células se transfectaron con una construcción en la que se había fusionado la zona reguladora del gen de la insulina con un gen quimérico, β geo, que posee la doble propiedad de codificar la expresión de la enzima β galactosidasa y la proteína que confiere resistencia a la neomicina. Es decir, que cuando una célula exprese insulina, el mismo complejo de factores de transcripción encargado de activar a la ARN polimerasa I, activará la expresión de β galactosidasa y del gen de resistencia a la neomicina. Si en estas condiciones añadimos neomicina al cultivo eliminaremos todas las células que no produzcan insulina.

3. **Maduración:** Aunque las células seleccionadas sintetizan insulina el contenido es aún muy modesto. En estas condiciones las células deben ser sometidas a un proceso de maduración. De entre los muchos sistemas ensayados, el que mejores resultados nos ha dado hasta el momento es la exposición a nicotinamida 10 mM durante dos semanas y otros 5-7 días en presencia de nicotinamida 10 mM y baja glucosa (5 mM). Por razones que desconozco, las células madre han de cultivarse en alta glucosa (25-30 mM), algo que a quienes trabajamos con la diabetes nos sorprende. Aunque para células adultas estas concentraciones son glucotóxicas⁽¹⁸⁾, no parece que ocurra lo mismo con las células madre. Sin embargo, cuando las células madre son sometidas a una restricción de nutrientes empiezan a diferenciarse.

d. El trasplante de células derivadas de células madre normaliza de la glucemia de ratones diabéticos

La verdadera prueba de fuego es comprobar si el implante de estas células a animales diabéticos es capaz de normalizar las cifras de glucemia de animales diabéticos. Para comprobar esto se implantaron las células seleccionadas en el bazo de ratones a los que se provocó una diabetes experimental mediante la inyección de 200 mg/kg de streptozotocina. En el 100% de los casos la glucemia se normalizó en las primeras 24 h. Por el contrario, ninguno de los ratones trasplantados sobrevivió más allá de 4-6 semanas⁽¹³⁾. Cuatro meses más tarde se pudo comprobar que

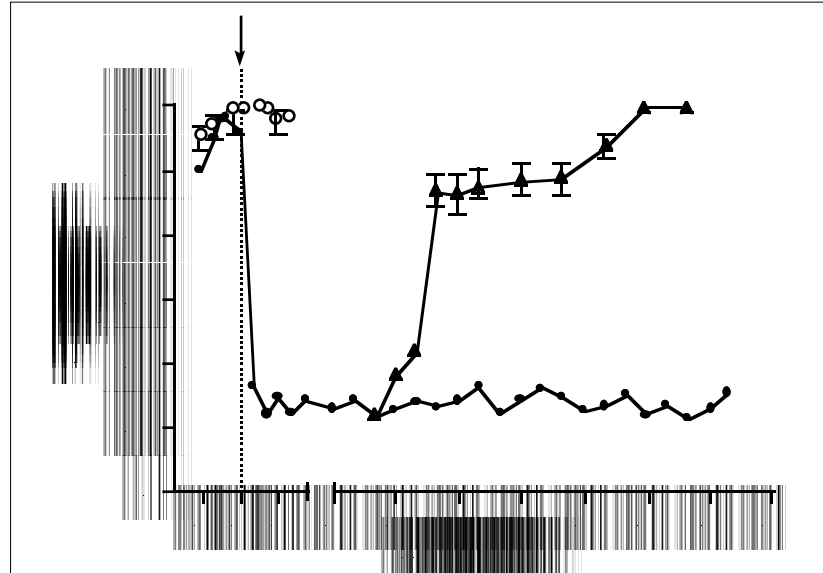


Figura 2. Normalización de la glucemia en ratones diabéticos a los que se trasplantaron células productoras de insulina diferenciadas a partir de células madre.

tanto en bazo como en hígado, adonde llegan por vía porta, existen células positivas para insulina y para β galactosidasa, lo que indica que el fenotipo de las células trasplantadas se mantiene estable.

e. Fuentes alternativas de células madre

Las células embrionarias no son la única fuente de células madre. En el caso de los islotes la célula progenitora en el adulto es la célula ductal. Bonner-Weir y cols.⁽¹⁹⁾ han desarrollado un método «in-vitro» para la obtención de islotes a partir de células ductales humanas. Para ello las células ductales son cultivadas en monocapa en presencia de un medio ITS (insulina + transferrina + selenio) para a continuación ser cultivadas en una matriz tridimensional (Matrigel®). Aunque hasta el momento esta técnica posee una limitada capacidad de expansión, es de esperar que pueda mejorarse y ser

utilizada para aumentar la cantidad de tejido que puede trasplantarse tras la obtención de islotes de un donante. Por otra parte, varios grupos están tratando de aumentar la limitada capacidad de proliferación de las células de los islotes⁽²⁰⁾.

f. ¿Qué hay que trasplantar: células beta o islotes?

Sin lugar a dudas una célula beta es un sistema eficiente para captar la concentración de glucosa extracelular y liberar la glucosa necesaria para normalizar dicha cifra. Es decir, un implante de células beta es más eficiente que la terapia intensiva con insulina. Sin embargo, se sabe que la célula beta no está en condiciones fisiológicas dispersa en el hígado o en el páncreas. Las células beta se encuentran, junto con otros tipos celulares formando islotes, u otras agrupaciones como los cuerpos de Brokman, en prácticamente todos los vertebrados. Se sabe que el islote pan-

creático es un microórgano profusamente vascularizado e innervado en el que existen cuatro tipos celulares (células α , β , δ y PP) organizadas con una arquitectura característica y con un funcionamiento integrado y regulado por la presencia de nutrientes⁽²¹⁻²³⁾. La población celular β se organiza en grupos de forma que todas las células forman un sincitio funcional⁽²⁴⁾, gracias a la conexión mediante uniones en gap⁽²⁵⁾. Esta es la razón por la que responden de forma sincrónica a concentraciones extracelulares de glucosa que superan las cifras fisiológicas^(26,27) y constituye la base estructural y fisiológica de la secreción pulsátil de insulina⁽²⁸⁾. Por el contrario, las células α , que responden a la ausencia, más que a la presencia, de nutrientes, no están conectadas mediante uniones en gap y responden de forma asincrónica⁽²¹⁾. Las células δ , secretoras de somatostatina, cumplen un papel paracrino y regulan el funcionamiento de las células beta⁽²⁹⁾. De todo esto se deduce que el correcto funcionamiento de la célula beta supone su integración dentro del islote, algo que las técnicas de ingeniería celular deben tratar de reproducir.

La posibilidad de generar in-vitro islotes en vez de células beta aparece como una posibilidad más pertinente y atractiva que la de producir «sólo» células beta. Para ello el procedimiento más eficaz sería aislar el progenitor del páncreas endocrino y comprobar si a partir de estas células podemos regenerar islotes.

AGRADECIMIENTOS

La investigación en mi laboratorio

ha sido financiada en parte por la Unión Europea (1FD97-1065-CO3-02), la Fundació La Marató de TV3 (99-1210), el Ministerio de Ciencia y Tecnología (PM98-0105 y PM99-0142), la Juvenile Diabetes Foundation (1-2000-575), la Fundación Salud 2000 y Cardion AG (Erkrat, Alemania). A todos ellos y muy especialmente a mis colaboradores les debo la posibilidad de dedicarme a un trabajo cuyo estímulo intelectual sólo puede ser superado por el compromiso que voluntariamente he adquirido con la diabetes, una enfermedad que puede ser devastadora si no recibe la atención adecuada.

BIBLIOGRAFÍA

1. DCCT. The diabetes control and complications trial research group. The effect of intensive treatment of diabetes in the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Eng J Med* 1993;**329**:6510-6520.
2. *International Islet Transplant Registry*. University of Giessen, Germany 2001; (<http://www.med.uni-giessen.de>)
3. Shapiro AMJ, Lakey JRT, Ryan EA, Korbutt GS, Toth E, Warnock GL, Kneteman NM, Rajotte RV. Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a corticoid-free immunosuppressive regime. *N Eng J Med* 2000;**343**:230-238.
4. Martín F, Bedoya FJ. Short-term effects of cyclosporine on secretagogue-induced insulin release by isolated islets. *Transplantation* 1990;**50**:551-553.
5. Ryan EA, Lakey JRT, Rajotte RV, Korbutt GS, Kin T, Imes S, Rabinovitch A, Elliott JF, Bigam D, Kneteman NM, Warnock GL, Larsen I, Shapiro AMJ (2001) Clinical outcomes and insulin secretion after islet transplantation with the Edmonton protocol. *Diabetes* 2001;**50**: 710-719.
6. Atwater I, Rojas E, Soria B. *Biophysics of the Pancreatic B-cell*. Plenum Press, New York, 1986.
7. Ricordi C, Lacy PE, Finke EH, Olack BJ, Scharp DW. Automated method for isolation of human pancreatic islets. *Diabetes* 1988;**37**: 413-420.
8. Soria B, Martín F, Andreu E, Sanchez-Andrés JV, Nacher V, Montaña E. Diminished fraction of blockable KATP channels in syngeneic islet transplanted into diabetic mice. *Diabetes* 1996;**45**:1755-1760.
9. Linetsky E, Bottino R, Lehmann R, Alejandro R, Inverardi L, Ricordi C. Improved human islet isolation using a new enzyme blend, liberase. *Diabetes* 1997;**46**:1120-1123.
10. Soria B, Skoudy A, Martín F. From stem cells to β -cells: new strategies in cell therapy of diabetes mellitus. *Diabetologia* 2001;**44**:407-415.
11. Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ, Campbell KHS. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 1997;**385**:810-813.
12. Berná G, León-Quinto T, Enseñat-Wasser R, Montanya E, Martín F, Soria B. Stem cells and diabetes. *Biochem Pharmacother* 2001;**55**: 206-212.
13. Soria B, Roche E, Berná G, León-Quinto T, Reig JA, Martín F. Insulin-secreting cells derived from embryonic stem cells normalize glycaemia in streptozotocin-induced diabetic mice. *Diabetes* 2000;**49**:157-162.
14. Smith A. Embryonic stem cells. In: Marshak DR, Gardner RL, Gottlieb D (eds). *Stem Cell Biology*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 2001, pp 205-230.
15. Voss AK, Thomas T, Petrou P, Anastasiadis K, Scholer H, Gruss P. Taube nuss is a novel gene essential for the survival of pluripotent cells of early mouse embryos. *Development* 2000;**127**:5449-5461.

16. Schuldiner M, Yanuka O, Itskovitz-Eldor J, Melton DA, Benvenisty N. Effects of eight growth factors on the differentiation of cells derived from human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;**97**:11307-11312.
17. Soria B. In-vitro differentiation of pancreatic β -cells. *Differentiation* 2001;**68**:205-219.
18. Roche E, Maestre I, Martín F, Fuentes E, Casero J, Reig JA, Soria B. Nutrient toxicity in pancreatic β -cell dysfunction. *J Physiol Biochem* 2000;**56**:119-128.
19. Bonner-Weir S, Taneja M, Weir GC, Tatarikiewicz K, Song K, Sharma A, O'Neil JJ. In vitro cultivation of human islets from expanded ductal tissue. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;**97**:7999-8004
20. Hayek A, Beattie GM, Cirulli V, Lopez AD, Ricordi C, Rubin JS. Growth factor/matrix induced proliferation of human adult β -cells. *Diabetes* 1995;**48**:722-730.
21. Nadal A, Quesada I, Soria B. Homologous and heterologous unsynchronicity between identified α -, β - and δ -cells within intact islet of Langerhans in the mouse. *J Physiol (Lond)* 1999;**517**:85-93.
22. Quesada I, Nadal A, Soria B. Different effects of tolbutamide and diazoxide in α -, β - and δ -cells within intact islets of Langerhans. *Diabetes* 1999;**48**:2390-2397.
23. Charollais A, Gjinovci A, Huarte J, Bauquis J, Nadal A, Martín F, Andreu E, Sanchez-Andrés JV, Calabrese A, Bosco D, Soria B, Wollheim CB, Herrera PL, Meda P. Junctional communication of pancreatic beta cells contributes to the control of insulin secretion and glucose tolerance. *J Clin Invest* 2000;**106**:235-243.
24. Santos R, Rosario LM, Nadal A, García-Sancho J, Soria B, Valdeolmillos M. Widespread (Ca²⁺)_i oscillations due to bursting electrical activity in single pancreatic islets. *Pflügers Arch-Eur J Physiol* 1991;**418**:417-422.
25. Andreu E, Soria B, Sanchez-Andrés JV. Oscillations of the gap junction electrical coupling in the mouse pancreatic islet of Langerhans. *J Physiol (Lond)* 1997;**498**:753-761.
26. Martín F, Soria B. Glucose-induced (Ca²⁺)_i oscillations in single human pancreatic islets. *Cell Calcium* 1996;**20**:409-414.
27. Martín F, Soria B. Amino acid induced (Ca²⁺)_i oscillations in single mouse pancreatic islets. *J Physiol (Lond)* 1995;**486**:361-371.
28. Martín F, Sanchez-Andrés JV, Soria B. Slow (Ca²⁺)_i oscillations induced by ketoisocaproate in mouse pancreatic islets. *Diabetes* 1995;**44**:300-305
29. Soria B, Andreu E, Berná G, Fuentes E, Gil A, León-Quinto T, Martín F, Montanya E, Nadal A, Reig JA, Ripoll C, Roche E, Sanchez-Andrés JV, Segura J. Engineering pancreatic islets. *Pflügers Archiv-European J Physiol* 2000;**440**:1-18.

Criterios diagnósticos de la diabetes mellitus: Un debate permanente

M. Aguilar

Endocrinología y Nutrición, Hospital Puerta del Mar, Cádiz

INTRODUCCIÓN

El término diabetes mellitus (DM) describe diferentes síndromes relacionados con trastornos del metabolismo hidrocarbonado que tienen en común la presencia de hiperglucemia. Se asocian a un trastorno relativo o absoluto de la secreción de insulina y a diferentes grados de resistencia a su acción. El diagnóstico es fácil cuando aparecen con clínica cardinal (poliuria, polidipsia, pérdida de peso) y los niveles glucémicos se hallan persistentemente elevados pero, en ausencia de clínica manifiesta, no es sencillo establecer el límite del valor glucémico inocuo para la salud.

Los criterios para el diagnóstico de la DM fueron desarrollados originariamente por la National Diabetes Data Group (NDDG) en 1979⁽¹⁾ y adoptados por la Organización Mundial para la Salud (OMS) en diferentes informes (2-4). Se incluían los siguientes (Tabla I):

1. Elevación de la glucemia plasmática ≥ 200 mg/dl en presencia de clínica cardinal.
2. Glucemia plasmática en ayunas (GPA) ≥ 140 mg/dl
3. Glucemia plasmática ≥ 200 mg/dl a las 2 horas de un test de tolerancia oral de glucosa (TTOG) con 75 grs.
4. Se incluyó el término de intolerancia a la glucosa (IG) para los casos que presentaban niveles glucémicos tras TTOG entre la normalidad y DM: 140-200 mg/dl.

En 1995 la American Diabetes Association (ADA) promovió la creación de un comité internacional de expertos con el objetivo de revisar la lite-

ratura científica posterior a 1979 y valorar la necesidad de introducir modificaciones en el diagnóstico y clasificación de la DM. El informe del comité de expertos fue publicado a mediados de 1997⁽⁵⁾ y posteriormente asumido, en su mayor parte, por la OMS⁽⁶⁾ y otras organizaciones internacionales⁽⁷⁾.

NUEVOS CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE DIABETES MELLITUS

Los nuevos criterios que la ADA-97 recomienda para el diagnóstico de la DM son los siguientes⁽⁵⁾ (Tabla I, II):

1. Síntomas de DM (poliuria, polidipsia, pérdida de peso injustificada) más glucemia plasmática ≥ 200 mg/dl.
2. GPA (≥ 8 h) ≥ 126 mg/dl
3. Glucemia plasmática 2 h tras TTOG (75 g) ≥ 200 mg/dl.
4. Se introduce el término de glucemia en ayunas alterada (GAA) para niveles entre 110-125 mg/dl.

Estos criterios precisan confirmación en día diferente, salvo hiperglucemia con descompensación aguda, y deben basarse, fundamentalmente, en la determinación de la GPA. El TTOG no se recomienda como método de rutina por considerarse caro y de baja reproductibilidad. Además, la determinación de GPA es más económica y fácil de realizar que tras TTOG^(8,9). Sin embargo, el nuevo documento de la OMS de 1999⁽⁶⁾, aunque acepta el nuevo nivel establecido para la GPA, no excluye el TTOG como método diagnóstico de rutina y lo recomienda cuando los niveles glucémicos no son determinantes (Tabla I, II).

TABLA I CRITERIOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE DIABETES MELLITUS

ADA 1997	OMS 1985	OMS 1999
1. Síntomas de diabetes y determinación casual de una concentración de glucosa en plasma ≥ 200 mg/dl.	1. Síntomas de diabetes y determinación casual de una concentración de glucosa en plasma ≥ 200 mg/dl.	1. Síntomas de diabetes y determinación casual de una concentración de glucosa en plasma ≥ 200 mg/dl.
2. Glucosa plasmática en ayunas ≥ 126 mg/dl.*	2. Glucosa plasmática en ayunas ≥ 140 mg/dl.*	2. Glucosa plasmática en ayunas ≥ 126 mg/dl.*
3. Glucosa plasmática a las 2 horas ≥ 200 mg/dl durante una prueba de tolerancia oral a la glucosa oral (y)	3. Glucosa plasmática a las 2 horas ≥ 200 mg/dl durante una prueba de tolerancia oral a la glucosa oral.	3. Glucosa plasmática a las 2 horas ≥ 200 mg/dl durante una prueba de tolerancia oral a la glucosa oral (j).

*Se consideraran síntomas de diabetes: poliuria, polidipsia y pérdida inexplicada de peso; Casual se define como cualquier hora o día sin tener en cuenta el tiempo transcurrido tras la última comida.; Ayunas: al menos 8 horas sin ingestión; Prueba realizada con 75 gr. de glucosa. * en dos ocasiones. (y): no recomendado como test de rutina. (j) recomendado ante niveles de glucemia no determinantes.*

TABLA II CRITERIOS DIAGNÓSTICO ACTUALES DE LOS TRASTORNOS DE LA TOLERANCIA A LA GLUCOSA (ADA-97 Y OMS-99)

Glucosa plasmática (mg/dl)	Normal	Glucemia en Ayunas Alterada	Intolerancia a la Glucosa	Diabetes Mellitus
Ayunas	<110	110-125		≥ 126
TTOG 2-h	<140		140-199	≥ 200

TTOG= test de tolerancia oral a la glucosa

El diagnóstico precoz de la DM resulta de gran importancia ya que un adecuado control metabólico desde su inicio previene o retrasa sus complicaciones⁽¹⁰⁻¹²⁾. Ello adquiere máxima relevancia ante el hecho de que la mitad de la población con DM desconoce que la padece y, debido al retraso en el diagnóstico, un elevado porcentaje de pacientes presentan complicaciones específicas al comienzo de la enfermedad⁽¹³⁾.

Los nuevos criterios diagnósticos de la DM propuestos por la ADA-97⁽⁵⁾ ratifican los previos de NDDG-79⁽¹⁾ y de la OMS-85⁽³⁾ cuando la concentración de glucosa plasmática en sangre

venosa es igual o superior a 200 mg/dl, especialmente ante la presencia de clínica cardinal. Y aceptan como una glucemia igual o superior a 200 mg/dl 2-h tras el TTOG. Sin embargo, tanto el grupo de expertos de ADA-97⁽⁵⁾ como los responsables de revisar los criterios de la OMS⁽¹⁴⁾ coinciden en reducir el umbral diagnóstico de la GPA desde 140 mg/dl a 126 mg/dl. Tal recomendación se basa en diversos estudios epidemiológicos en poblaciones de diferentes países y grupos raciales^(8,9) que demuestran que la GPA de 140 mg/dl y de 200 mg/dl tras el TTOG no son equivalentes en cuanto al riesgo de presentar complicaciones microangiopá-

ticas de DM ni definen prevalencias similares de la enfermedad. En cambio, valores en ayunas de 126 mg/dl se asocian con niveles de 200 mg/dl tras el TTOG y representan el valor de glucemia a partir del cual aumenta exponencialmente la prevalencia de complicaciones vasculares.

A pesar de que desde hace varias décadas el TTOG viene siendo el patrón de referencia para el diagnóstico de DM, sus importantes limitaciones biológicas y metodológicas han desaconsejado su utilización como prueba diagnóstica de rutina. La GPA se ha considerado la mejor prueba para diagnosticar la DM por su simplicidad, bajo coste, reproducibilidad y disponibilidad en todo el mundo^(5, 9).

Dada la importancia del diagnóstico precoz y de la identificación del mayor porcentaje de población posible que padece DM, era de esperar que los nuevos criterios ADA-97 favorecieran tales cometidos, mediante la sola determinación de la GPA, sin incrementar significativamente el número de personas con DM. Así, en un estudio re-

alizado en población de 40 a 70 años en los Estados Unidos⁽¹⁵⁾ se estimó que los pacientes con DM no diagnosticados que serían detectados mediante la determinación de la glucemia a las 2-h del TTOG (utilizando un valor ≥ 200 mg/dl) serían un 6,34%. Aproximadamente dos terceras partes (4,35%) habrían sido también diagnosticados mediante GPA (≥ 126 mg/dl) y tan sólo una tercera parte (2,35%) mediante $GPA \geq 140$ mg/dl. Así pues, aplicando los nuevos criterios diagnósticos, la prevalencia estimada de DM en Estados Unidos entre la población de 40 a 70 años sería del 12,27% (criterios ADA-97) en lugar del 14,26% (criterios OMS-85).

Mediante un análisis de los resultados del TTOG en 16 estudios europeos que incluyeron a 25.219 personas sin DM conocida, el grupo de estudio DECODE⁽¹⁶⁾ halló que 904 pacientes (3,6%) podrían ser diagnosticados de DM según los antiguos criterios (OMS-85) y 1.044 (4,1%) según los nuevos (ADA-97). Sin embargo, sólo 431 (1,7%) cumplían ambos criterios, lo que supone una concordancia de tan sólo el 28%. Ello evidencia que, en gran medida, ambas propuestas identifican grupos de población diferentes cuyo significado aún se halla por dilucidar. De hecho, con los criterios de la ADA-97 se identificaron mejor las personas de mediana edad y con obesidad que con los de la OMS-85.

Otro aspecto a considerar es la edad de la población estudiada. En un estudio realizado en 4.515 personas sin DM de 65-100 años de edad⁽¹⁷⁾, se observó que un 47% presentaban trastornos de la tolerancia a la glucosa tras el TTOG y, de ellos, el 15% DM. Sin embargo,

empleando sólo la GPA (ADA-97), sólo un 22% mostraron alteraciones de la glucemia y el 8% DM. Por tanto, en comparación con los criterios de la OMS-85, los criterios de la ADA-97, además de no identificar a la población con IG, subvaloraron la prevalencia de DM en ancianos.

La relación entre la GPA, la GP 2-h y la enfermedad macrovascular ha sido analizada en los últimos años. En estudios en sujetos sin DM la GP 2-h se asocia con mayor fuerza a eventos coronarios⁽¹⁸⁾. En la enfermedad vascular periférica, se ha detectado una fuerte asociación tanto con la GPA como con la GP 2-h⁽¹⁹⁾. En el estudio Prospectivo de París, la incidencia de cardiopatía isquémica grave se relacionó tanto con la GPA como con la GP 2-h⁽²⁰⁾. La incidencia de tales eventos se hallaba muy elevada con $GPA > 125$ mg/dl ó $GP\ 2-h > 140$ mg/dl y se incrementaba notablemente, casi linealmente, con niveles de GPA por encima de 110–120 mg/dl. Así pues, tanto la GPA como la GP 2-h proporcionan importante información del riesgo de enfermedad tanto micro como macrovascular que acontece en población sin DM y que parece corresponderse con los nuevos valores establecidos por la ADA-97.

La reproductibilidad es una propiedad importante de una prueba diagnóstica y, en este sentido, la GPA parece preferible. Cuando el TTOG se repite en adultos en un intervalo de 2-6 semanas, el coeficiente de variación intra-individual resulta del 16,7% para la GP 2-h y sólo del 6,4% para la GPA⁽²¹⁾.

Es importante recordar que los motivos que hicieron mantener el nivel de 200 mg/dl a las 2-h del TTOG

para el diagnóstico de la DM fueron varios^(1,3). Primero, que los niveles de 200 mg/dl representan el corte de los dos componentes de una distribución bimodal de GP 2-h; segundo, que diferentes estudios han demostrado que la prevalencia de la enfermedad microvascular se incrementa exponencialmente a partir de GP 2-h ~ 200 mg/dl; y, tercero, que existe una ingente cantidad de información clínica y epidemiológica recogida con niveles de corte de 200 mg/dl a las 2-h del TTOG. El cambio del punto de corte diagnóstico de la GPA a 126 mg/dl, se basa en que así diagnosticaría condiciones similares dada la equivalencia existente entre la GPA y la GP 2-h en su asociación con las complicaciones vasculares y en su discriminación entre los dos componentes de una distribución de frecuencia bimodal^(8,9). McCance et al.⁽⁹⁾ evaluó en indios Pima el nivel de la GPA equivalente (en sensibilidad y especificidad para la retinopatía) a los criterios de la OMS-85 de $GP\ 2-h \geq 200$ mg/dl y encontró que se correspondía con un nivel de $GPA \geq 123$ mg/dl. Finch et al.⁽²²⁾ lo realizó en 13 poblaciones del pacífico y encontró que un nivel de ≥ 126 mg/dl mostraba la misma prevalencia de DM que los reconocidos $GP\ 2-h \geq 200$ mg/dl. En el NHANES III, el nivel de GPA correspondiente resultó ser de 121 mg/dl, y, en el estudio en población egipcia, de 129 mg/dl (para un punto de corte de 209 mg/dl de GP a 2-h)⁽⁸⁾. El punto de corte elegido fue el que se hallaba en el límite superior de estas estimaciones: $GPA \geq 126$ mg/dl; aunque ello supusiera una ligera disminución en el número de personas

diagnosticadas de DM con respecto al identificado según los criterios de NDDG-79 y OMS-85.

Así pues, los criterios de ADA-97 estiman que, aunque el TTOG es un test aceptable para el diagnóstico de DM, y ha tenido una gran importancia en la investigación clínica y epidemiológica, no se recomienda como prueba de rutina. Su empleo no se halla generalizado, requiere más tiempo y recursos y su reproductibilidad es menor que la GPA⁽²¹⁾. Si se utiliza el TTOG, los criterios diagnósticos empleados deberían ser los propuestos por la OMS⁽³⁾.

HbA1c Y DIAGNÓSTICO DE LA DM

Algunos estudios han demostrado que la distribución de frecuencia de la HbA1c tiene características similares a la de la GPA y GP 2-h y se asocia claramente a la aparición de complicaciones vasculares^(8,9,18,19). Además, como es la medida de elección para establecer los objetivos de control de la DM y valorar la respuesta terapéutica, hay autores que recomiendan su medición bien test diagnóstico^(23,24) u orientativo⁽⁷⁾. Sin embargo, actualmente, no se recomienda la medición de HbA1c como valor diagnóstico porque se realiza por métodos diversos con diferentes puntos de corte y no se dispone de una adecuada estandarización internacional⁽²⁵⁾.

Curiosamente, los criterios mencionados lo son para el diagnóstico de DM pero no como objetivos de tratamiento. En los nuevos objetivos de control de la ADA no se han establecido propuestas de cambio con respecto a las previas de GP <120 mg/dl y HbA1c <7%⁽²⁶⁾. El

nuevo criterio, pues, de GPA ≥ 126 mg/dl se basa en que es un nivel de glucemia que refleja una clara anomalía metabólica y se asocia con complicaciones severas pero, por estas contradicciones, en un futuro próximo, probablemente, habrá de ser reevaluado.

IMPLICACIONES DE LOS CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE LA DIABETES MELLITUS

Los nuevos criterios tienen implicaciones en la estimación de la prevalencia de la DM y en las actuaciones derivadas del diagnóstico. Aunque tanto la GPA ≥ 126 mg/dl como la GP 2-h ≥ 200 mg/dl tienen similar valor predictivo para las complicaciones, no se correlacionan exactamente. La medición de ambos valores en una determinada población puede conducir a discrepancias y dudas pues, aunque identifican globalmente a un número similar de personas, el grado de concordancia es bajo.

La asunción general de los nuevos criterios tiene un importante impacto en la población diagnosticada. Alrededor de un 50% de las personas con DM tipo 2 están sin diagnosticar⁽²⁷⁾ y cuando se realiza, la media de evolución es de 7 años⁽²⁸⁾. Esto es un importante problema de salud puesto que la hiperglucemia causa enfermedad microvascular y contribuye a la enfermedad macrovascular. Así, las personas con DM tipo 2 no diagnosticadas tienen un mayor riesgo para padecer enfermedad vascular coronaria, cerebral y periférica. Además, presentan un mayor riesgo de dislipemia, hipertensión arterial y obesidad⁽²⁹⁾.

IMPLICACIONES EN LA PREVENCIÓN DE LA DIABETES MELLITUS

La aparición de DM se ha relacionado tanto con la GAA como con la IG⁽³⁰⁻³⁴⁾ y, en particular, con la presencia de ambas⁽³⁴⁾. Así, Edelstein et al.⁽³¹⁾ publicaron incidencias acumuladas de DM del 23% al 62% en 6 estudios prospectivos en personas con IG, con seguimiento de 2 a 27 años, en diferentes etnias. En población blanca, son destacables los resultados del estudio Hoorn⁽³⁴⁾ en 1.342 pacientes de 50-75 años de edad. La incidencia acumulada de DM en toda la población a los 6 años de seguimiento fue de 6,1%, 8,3%, y 9,9% según los criterios de OMS-1985, ADA-97 y OMS-1999, respectivamente. Sin embargo, para los que presentaban GAA e IG resultó ser del 64,5% comparado con el 4,5% de los que presentaban valores glucémicos normales. Las odds ratios para DM (criterios OMS-1999), ajustada para otras variables, fue de 10,0, 10,9, y 39,5 para aquellas personas que presentaban GAA, IG y ambas, respectivamente.

La incidencia acumulada de DM en personas con GAA es menos conocida que en población con IG. Se han comunicado incidencias en diferentes estudios del 38% a 6 años⁽³⁴⁾, 39% a 9 años⁽³³⁾ y 28,9% a 5 años (comparado con 24,4% en población con IG)⁽³⁵⁾. En un estudio italiano entre 1245 sujetos seguidos durante 11,5 años, los participantes con GAA y IG tenían una OR de 10,3 para desarrollar DM con respecto al control. La incidencia acumulada de DM en la población con IG fue mayor que en la de GAA (32,5% versus 9,1%)⁽³⁶⁾. La diferencia con otros estudios en los que el riesgo de DM es

similar en las personas con GAA e IG podría hallarse en relación con la edad de los participantes y la prevalencia de la enfermedad en la población objeto del estudio.

La diferencia de incidencia en las poblaciones estudiadas así como la escasa concordancia de los sujetos en uno y otro grupo indican que la GAA y la IG representan diferentes aspectos fisiopatológicos en la DM tipo 2. Mientras que la elevación de la glucemia en ayunas se debe a un incremento de la producción hepática de glucosa en un estado hiperinsulinémico, la IG se caracteriza por representar un estadio más avanzado caracterizado tanto por un trastorno de la sensibilidad como de la secreción de insulina^(37,38).

IMPLICACIONES DE LOS CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE LA DIABETES MELLITUS EN ESPAÑA

En España, diferentes grupos han evaluado el impacto de los nuevos criterios diagnósticos en la prevalencia de la DM y en su asociación a factores de riesgo de enfermedad cardiovascular. Antes de los nuevos criterios de la ADA-97, en Lejona (Vizcaya) se describió una prevalencia del 6,4% de la que un 3,6% era desconocida; la prevalencia de IG fue de 10,4% y se detectó una clara asociación con factores de riesgo de enfermedad vascular⁽³⁹⁾. En Aragón, se describió una prevalencia de DM diagnosticada, no diagnosticada y de IG del 3,1, 3,0, y 7,2%, respectivamente; tanto la DM como la IG se asociaron a hipertensión arterial, dislipemia y obesidad⁽⁴⁰⁾.

En Asturias, se compararon los dos

criterios en una población de atención primaria entre 40-75 años. La prevalencia de diabetes fue del 10,5% aplicando criterios OMS-85 y del 8,7% utilizando los de ADA-97. Presentaban GAA el 5,5% de los cuales, un 34,7%, padecían DM según los criterios de la OMS-85. Ningún paciente normoglucémico por criterios ADA-97 fue diabético por los criterios de la OMS-85; sin embargo, tanto la ADA como la OMS clasificaron a los normoglucémicos en grupos diferentes⁽⁴¹⁾.

En Cataluña, es un estudio transversal, se evaluaron 580 sujetos. Los diagnósticos según criterios OMS-85 fueron: 50,2% normal, 27,1% IG y 22,7% DM. Según la de ADA-97: 61,2% GPA normal; 25,2% GAA; y 13,6% DM, descendiendo la prevalencia de DM un 9,1%. La superposición diagnóstica fue un 33,5% para la DM y un 19,3% para alteraciones intermedias (IG y GAA). El 50% de diabéticos con glucemia a las 2 h igual o superior a 200 mg/dl pero con glucemia basal inferior a 126 mg/dl no se hubiera identificado sin TTOG. Al cambiar el criterio de detección (basal por glucemia a las 2 h) se redujo el riesgo relacionado con factores clásicos como la edad y los antecedentes familiares⁽⁴²⁾.

En Canarias, de Pablos et al.⁽⁴³⁾ refieren una prevalencia del 15,9% con los criterios de ADA-97 versus 18,7% con los de OMS-1985. La prevalencia de GAA fue del 8,8% y la de IG del 17,1%. Así pues, la sensibilidad de la GPA para el diagnóstico de DM resultó menor que la de GP 2-h al igual que han mostrado otros estudios en población europea⁽⁴⁴⁾ y no europea⁽⁴⁵⁻⁴⁸⁾. Así mismo, ambos estados intermedios (GPA e IG) identifican poblaciones

bien diferentes y presentan un solapamiento realmente bajo^(43,46-48).

En Andalucía en una muestra de 1023 personas (de 18-65 años) de Pizarra (Málaga), se comunicó una prevalencia de DM de 14,7% (ADA-97), de GAA del 11,5% y de IG del 14,5%. La coexistencia de ambas, GAA e IG, fue sólo fue del 4,2%⁽⁴⁹⁾.

SIGNIFICACIÓN CLÍNICA DE LOS CRITERIOS DIAGNÓSTICOS

Como se ha comentado, los resultados son variables pero la sensibilidad de la glucemia a las 2-h del TTOG parece superior. Sin embargo, los criterios diagnósticos no deberían basarse sólo en la prevalencia de DM resultante de su aplicación, sino que más bien deberían hacerlo en su capacidad para predecir complicaciones específicas^(8,9,22) de la DM y otros eventos como la enfermedad cardiovascular⁽⁵⁰⁻⁵²⁾.

De especial interés resultan los estudios que comparan los 3 criterios (OMS-85, OMS-99 y ADA-97) en una misma población. Gabor et al lo realizan en una de alto riesgo (indios Pima) y encuentran una frecuencia de DM de 12,5% (ADA-97), 14,6% (OMS-85) y 15,3% OMS-99). La incidencia de DM se hallaba fuertemente asociada a GAA e IG con similar poder predictivo. La IG fue más frecuente que la GAA (15% vs. 5%) pero, a los 5 años, la incidencia de DM fue mayor en el grupo de GAA que en el de IG (37 vs. 24%)⁽⁵³⁾. En esta misma población, el mismo grupo encuentra que la frecuencia de retinopatía y nefropatía se hallaba directamente relacionada tanto con la GPA como con la GP 2-h a

niveles muy próximos a los establecidos como diagnósticos. La frecuencia de retinopatía fue de 4,7% en el grupo de GAA y de 20,9% en el de DM (ADA-97); 1,6% en el de IG y 19,7% en el de DM (OMS-1985) y 1,2% en el de IG y 19,2% en el de DM (OMS-1999). La mortalidad por enfermedad cardiovascular y renal fue mayor en personas con DM (GPA \geq 126 mg/dl ó GP 2-h \geq 200 mg/dl) que en aquellos con GAA o IG⁽⁵²⁾.

CONCLUSIÓN

La mayoría de las personas con DM cumplen los tres criterios (OMS-85, ADA-97 y OMS-99) simultáneamente. La prevalencia de categorías intermedias difiere, sin embargo, de unos criterios a otros. La GAA (ADA-97) define una proporción menor de personas con alto riesgo de desarrollar DM y, probablemente, enfermedad vascular, que la IG pero permite por su simplicidad y bajo coste hacerse más extensiva. Si se utilizase un nivel inferior del actual que define la GAA, el número de personas identificadas sería mayor, pero a expensas de una menor especificidad y valor predictivo. Cuando sea posible, la combinación de GPA y GP 2-h proporciona más información que sólo una de ellas. La realización de GPA resulta muy útil porque puede generalizarse su aplicación e identificar a muchas personas que podrían beneficiarse de una intervención.

Aún se requieren más estudios prospectivos que puedan confirmar la esperanza de que la aplicación de los nuevos criterios diagnósticos permitirá una disminución significativa de la

morbilidad y la mortalidad de la enfermedad y tendrá una influencia positiva en el nivel general de salud de la población.

BIBLIOGRAFÍA

1. National Diabetes Data Group. Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. *Diabetes* 1979;**28**:1039-1057.
2. World Health Organization. *Second report of the WHO Expert Committee on Diabetes Mellitus*. (Tech. Rep. Ser., n° 646). Ginebra, World Health Org., 1980.
3. World Health Organization. Diabetes Mellitus: *Report of a WHO Study Group*. (Tech. Rep. Ser., n° 727). Ginebra, World Health Org.; 1985.
4. World Health Organization. *Second report of prevention of Diabetes Mellitus*. (Tech. Rep. Ser., n° 884). Ginebra, World Health Org.; 1994.
5. American Diabetes Association. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1997;**20**:1183-1197.
6. World Health Organization. *Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and Its Complications: Part 1: Report of a WHO Consultation: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*. Geneva, World Health Org., 1999.
7. A desktop guide to type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med* 1999;**16**:716-730.
8. Engelgau MM, Thompson TJ, Herman WH, Boyle JP, Aubert RE. Comparison of fasting and 2-hour glucose and HbA1C levels for diagnosing diabetes: diagnostic criteria and performance revisited. *Diabetes Care* 1997;**20**:785-791.
9. Mc Cance DR, Hanson RL, Charles MA, Jacobson LTH, Pettit DJ, Bennett PH. Comparison of test for glycated haemoglobin and fasting and two hour plasma glucose concentrations as diagnostic methods for diabetes. *Br Med J* 1994;**308**:1323-1328.
10. DCCT Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in IDDM. *N Engl J Med* 1993;**329**:977-986.
11. UKPDS Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998;**352**:837-852.
12. Obkubo Y, Kishikawa H, Araki E, et al. Intensive insulin therapy prevents the progression of diabetic microvascular complications in Japanese patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus: A randomized prospective 6-years study. *Diabetes Res Clin Pract* 1995;**28**:103-117.
13. UKPDS Group. UK Prospective Diabetes Study VIII. study design, progress and performance. *Diabetologia* 1991;**34**:877-890.
14. Alberti KGMM, Zimmet PZ for the WHO Consultation. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of WHO consultation. *Diabetes Med* 1998;**15**:539-553.
15. Harris MI, Eastman RC, Cowie CC, Flegal KM, Eberhardt MS. Comparison of diabetes diagnostic categories in the US population according to 1997 American Diabetes Association and 1980-1985 World Health Organization diagnostic criteria. *Diabetes Care* 1997;**20**:1859-1862.
16. DECODE Study Group on behalf of the European Diabetes Epidemiology Study Group. Will new diagnostic criteria for diabetes mellitus change phenotype of patients with diabetes? Reanalysis of European epidemiological data. *BMJ* 1998;**317**:371-375.
17. Wahl P, Savage PJ, Psaty BM, Orchard TJ,

- Robbins JA. Diabetes in older adults: comparison of 1997 American Diabetes Association classification of diabetes mellitus with 1985 WHO classification. *The Lancet* 1998;**352**:1.012-1.015.
18. Jackson CA, Yudkin JS, Forrest RD. A comparison of the relationships of the glucose tolerance test and the glycated haemoglobin assay with diabetic vascular disease in the community: the Islington Diabetes Survey. *Diabetes Res Clin Pract* 1992;**17**:111-123.
19. Beks PJ, Mackay AJC, de Neeling JND, de Vries H, Bouter LM, Heine RJ. Peripheral arterial disease in relation to glycaemic level in elderly Caucasian population: the Hoorn Study. *Diabetologia* 1995;**38**:86-96.
20. Charles MA, Balkau B, Vauzelle-Kervöeden F, Thibault N, Eschwège E. Revision of diagnostic criteria for diabetes (Letter). *Lancet* 1996;**348**:1657-1658.
21. Mooy JM, Gootenhuis PA, de Vries H, Kostense PJ, et al. Intra-individual variation of glucose, specific insulin and proinsulin concentrations measured by two oral glucose tolerance tests in general Caucasian population: the Hoorn Study. *Diabetologia* 1996;**39**:298-305.
22. Finch CF, Zimmet PA, Alberti KGMM. Determining diabetes prevalence: a rational basis for the use of fasting plasma glucose concentrations? *Diabet Med* 1990;**7**:603-610.
23. Knowler, WC. Screening for NIDDM: opportunities for detection, treatment and prevention. *Diabetes Care* 1994;**17**:445-450.
24. Peters AL, Davidson MB, Schriger DL, Hasselblad V, the Meta-analysis Research Group on the Diagnosis of Diabetes Using Glycated Hemoglobin Levels 1996. A clinical approach for the diagnosis of diabetes mellitus: an analysis using glycated hemoglobin levels. *JAMA* 1996;**276**:1246-1252.
25. American Diabetes Association. Tests of glycemia in diabetes (Position Statement). *Diabetes Care* 2001;**24** (Suppl. 1):S80-S82.
26. American Diabetes Association. Standards of medical care for patients with diabetes mellitus (Position Statement). *Diabetes Care* 2001;**24** (Suppl. 1):S33-S43.
27. Harris MI, Hadden WC, Knowler WC, Bennett PH. Prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance and plasma glucose levels in the U.S. population aged 20-74 yr. *Diabetes* 1987;**36**:523-534.
28. Harris MI. Undiagnosed NIDDM: clinical and public health issues. *Diabetes Care* 1993;**16**:642-652.
29. Klein R. Hyperglycemia and microvascular and macrovascular disease in diabetes. *Diabetes Care* 1995;**18**:258-268.
30. Motala AA, Omar MA, Gouws E. High risk of progression to NIDDM in South-African Indians with impaired glucose tolerance. *Diabetes* 1993;**42**:556-563.
31. Edelstein SL, Knowler WC, Bain RP, et al. Predictors of progression from impaired glucose tolerance to NIDDM: an analysis of six prospective studies. *Diabetes* 1997;**46**:701-710.
32. Chou P, Li CL, Wu GS, Tsai ST. Progression to type 2 diabetes among high-risk groups in Kin-Chen, Kinmen: exploring the natural history of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 1998;**21**:1183-1187.
33. Dinneen SF, Maldonado D III, Leibson CL, et al. Effects of changing diagnostic criteria on the risk of developing diabetes. *Diabetes Care* 1998;**21**:1408-1413.
34. de Vegt F, Dekker J, Jager A, et al. Relation of Impaired Fasting and Postload Glucose With Incident Type 2 Diabetes in a Dutch Population: The Hoorn Study. *JAMA* 2001;**285**:2109-2113.
35. Shaw JE, Zimmet PZ, de Courten M, et al. Impaired fasting glucose or impaired glucose tolerance: what best predicts future diabetes in Mauritius? *Diabetes Care* 1999;**22**:399-402.
36. Vaccaro O, Ruffa G, Imperatore G, Iovino V, Rivellese AA, Riccardi G. Risk of diabetes in the new diagnostic category of impaired fasting glucose: a prospective analysis. *Diabetes Care* 1999;**22**:1490-1493
37. DeFronzo RA. Pharmacologic therapy for type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 1999;**131**:281-303.
38. Alberti KG. The clinical implications of impaired glucose tolerance. *Diabet Med* 1996;**13**:927-937.
39. Bayo J, Sola C, Garcia F, Latorre PM, Vazquez JA: The prevalence of non insulin dependent diabetes mellitus in Lejona (Vizcaya, Spain). *Med Clin (Barc)* 1993;**101**:609-612.
40. Tamayo-Marco B, Faure-Nogueras E, Roche-Asensio MJ, Rubio-Calvo E, Sanchez-Oriz E, Salvador-Oliván JA. Prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance in Aragon, Spain. *Diabetes Care* 1997;**20**:534-536.
41. Pulgar Suárez M, Gómez Guedes P, Aguado Díaz M, et al. Validez de los nuevos criterios diagnósticos de la diabetes mellitus tipo 2. Impacto de su aplicación en un área de salud. *Aten Primaria* 2001;**27**:111-115 .
42. Costa B, Martín F, Donado A, et al. Undiagnosed diabetes and impaired glucose metabolism on high risk Spanish population. The IGT study. *Med Clin (Barc)* 2000;**114**:601-608.
43. de Pablos-Velasco PL, Martínez-Martín FJ, Rodríguez-Pérez F, Anía BJ, Losada A, Betancor P. Prevalence and determinants of diabetes mellitus and glucose intolerance in a Canarian Caucasian population -comparison of the 1997 ADA and the 1985 WHO criteria. The Guía Study. *Diabet Med* 2001;**18**:235-241.
44. The DECODE Study Group. Is fasting glucose sufficient to define diabetes? Epidemiological data from 20 European studies. *Diabetologia* 1999;**42**:647-654.
45. Harris MI, Flegal KM, Cowie CC, et al. Prevalence of diabetes, impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance in US adults. *Diabetes Care* 1998;**21**:518-524.
46. Gómez-Pérez FJ, Aguilar-Salinas CA, Lopez-Alvarenga JC, Perez-Jauregui J, Guillen-Pineda LE, Rull JA. Lack of agreement between

- the WHO category of impaired glucose tolerance and the ADA category of impaired fasting glucose. *Diabetes Care* 1998;**21**:1886-1888.
47. Gimeno SGA, Ferreira SRG, Franco LJ, Iunes M. Comparison of glucose tolerance categories according to WHO and ADA diagnostic criteria in a population-based study in Brazil. *Diabetes Care* 1998;**21**:1889-1892.
48. Deepa R, Shanthi Rani S, Premalatha G, Mohan V. Comparison of ADA 1997 and WHO 1985 criteria for diabetes in south Indians—the Chennai Urban Population Study. *American Diabetes Association. Diabet Med* 2000;**17**:872-874.
49. Esteva I, Ruiz de Adana MS, Aguilar M, et al. Prevalencia de diabetes mellitus y de anticuerpos ICA, GADA, IA2, e IAA en la población general del sureste español. Estudio Pizarra. *Av Diabetol* 2000;**16**:12.
50. Diabetes Epidemiology Collaborative Analysis of Diagnostic Criteria in Europe Study Group: Glucose tolerance and mortality: comparison of WHO and American Diabetes Association diagnostic criteria. *Lancet* 1999;**354**:617-621.
51. Barzilay JI, Spiekerman CF, Wahl PW, et al. Cardiovascular disease in older adults with glucose disorders: comparison of American Diabetes Association criteria for diabetes mellitus with WHO criteria. *Lancet* 1999;**354**:622-625.
52. Gabir MM, Hanson RL, Dabelea D, et al. Plasma glucose concentrations and prediction of microvascular disease and mortality: evaluation of 1997 ADA and 1999 WHO diagnostic criteria for diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2000;**23**:1113-1118.
53. Gabir MM, Hanson RL, Dabelea D, et al. The 1997 American Diabetes Association and 1999 World Health Organization criteria for hyperglycemia in the diagnosis and prediction of diabetes. *Diabetes Care* 2000;**23**:1108-1112.

Estado actual de la prevención de la diabetes mellitus tipo 1

D. Mauricio

Unidad de Endocrinología y Nutrición, Hospital de Sabadell, Institut Universitari Parc Taulí

Correspondencia: Dídac Mauricio, Unidad de Endocrinología y Nutrición, Hospital de Sabadell, Institut Universitari Parc Taulí, Parc Taulí s/n, 08208 Sabadell

INTRODUCCIÓN

En la reciente clasificación de la diabetes mellitus, se definen dos entidades diferenciadas dentro de la diabetes mellitus tipo 1 (DM1)^(1, 2): la DM tipo 1a o autoinmune, y la tipo 1b o idiopática, cuya patogenia no incluiría mecanismos autoinmunes de destrucción de la célula beta. Sin embargo, la mayoría de pacientes con DM1 presentan al diagnóstico de la enfermedad signos de autoinmunidad. El 5-10% de individuos que no presentan signos de autoinmunidad^(3, 4), recientemente se ha sugerido que podrían ser considerados como un grupo de pacientes en que la patogenia de la enfermedad fuese distinta⁽⁵⁾. En trabajos realizados en nuestro medio no parecen existir diferencias clínicas significativas entre los pacientes en los que se demuestran marcadores de autoinmunidad al diagnóstico y los que no^(6, 7). Estos hallazgos parecen coincidir con los descritos en otras poblaciones occidentales, que demuestran que ambos grupos de pacientes presentan genes HLA de susceptibilidad para la enfermedad⁽⁷⁾, y difieren de los descritos en poblaciones de diferente origen étnico⁽⁵⁾. Por ello, a efectos de la presente revisión, por extensión consideraremos a la DM 1 como una enfermedad autoinmune.

En la DM1 se produce una destrucción selectiva de las células β mediada por células T⁽⁸⁾. El mecanismo de destrucción de dichas células no se conoce de manera precisa, y en la etiología subyace una interacción compleja entre factores genéticos y ambientales, siendo la patogenia de origen autoinmune⁽⁹⁾ (Fig. 1). Recientes revisiones sobre el tema, a las cuales nos remitimos,

han profundizado en la etiopatogenia de la DM1⁽¹⁰⁻¹³⁾. El conocimiento actual de la patogenia de la DM1 demuestra que en la historia natural de la enfermedad es durante el período inicial de la secuencia patogénica cuando se producen los eventos determinantes que conducen a la destrucción de la mayor parte de células productoras de insulina⁽¹⁴⁾. La DM1 es una enfermedad autoinmune órgano-específica, cuya fase preclínica abarca un largo período de tiempo, probablemente de años en la mayoría de los casos. Durante dicha fase, clínicamente silente, denominada prediabetes tipo 1, se produce toda la serie de eventos que conducen a la destrucción progresiva de la masa de células β pancreáticas. Se postula que sobre un sustrato de predisposición genética del individuo inciden uno o varios factores ambientales de manera concomitante o sucesiva que desencadenan y/o perpetúan el proceso de destrucción autoinmune⁽¹⁵⁾ (Fig. 1). La secuencia cronológica y la intensidad del daño autoinmune contra la célula β pancreática es probablemente muy variable, lo cual puede condicionar una progresión con expresión clínica heterogénea. En las dos últimas décadas se ha producido un considerable esfuerzo investigador en la identificación de marcadores inmunológicos, genéticos y metabólicos, que pudiera conducir a un mayor conocimiento de la secuencia de eventos preclínicos que se producen, a la identificación de sujetos con riesgo elevado de desarrollar la enfermedad y, por tanto, al diseño de estrategias de predicción y prevención de la enfermedad. En la presente revisión, no nos ocuparemos de la prevención de la DM1 en modelos animales en los

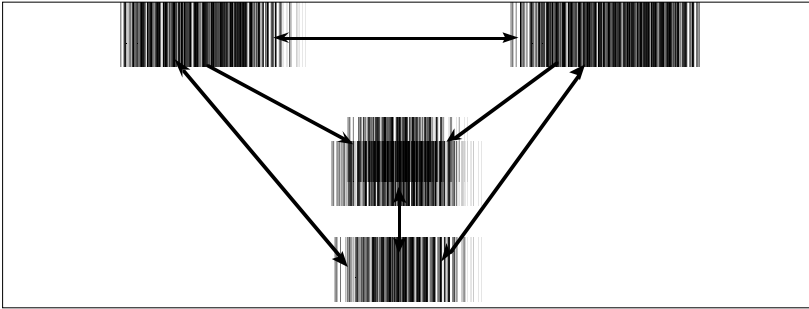


Figura 1. En la etiopatogenia de la diabetes tipo 1 intervienen diversos factores, que interaccionan de manera dinámica entre sí, dando como resultado la inducción de la respuesta autoinmune que conduce a la destrucción de la célula β . Sin embargo, la inducción de autoinmunidad no implica necesariamente enfermedad. Desconocemos aún los factores etiológicos que intervienen y la secuencia inicial de eventos que conducen al inicio de la agresión de manera selectiva contra las células productoras de insulina por parte de células del sistema inmunitario. Por otra parte, los mecanismos efectores últimos de dicha agresión no están completamente clarificados. Además, es seguro que el órgano diana, en este caso la célula β no se comporta como un sujeto pasivo a lo largo del desarrollo del proceso.

cuales hay descritas actualmente más de 120 estrategias preventivas⁽¹⁶⁾, algunas de las cuales han sido ensayadas también en humanos^(17, 18).

PREDICCIÓN DE RIESGO, Y PREDIABETES TIPO 1

Aunque el presente trabajo se centre en la prevención de la DM1, el hecho de tratar sobre la misma lleva ineludiblemente a tener que discutir sobre la predicción de la misma. La predicción en este caso conlleva el cribado de poblaciones con riesgo variable: población general, familiares de primer grado de pacientes con DM1 (FPG), mujeres con diabetes gestacional, etc. Es importante tener en cuenta que entre las razones que justifican el cribado de una enfermedad o condición se encuentran fundamentalmente que: la enfermedad sea grave, la precisión del cribado sea alta, el procedimiento de cribado sea aceptable para los sujetos involucrados, y que la detección precoz de la enfermedad implique una me-

oría en su pronóstico. Existen actualmente recomendaciones sobre la estimación de riesgo de DM1 emitidas por la Sociedad Española de Diabetes⁽¹⁹⁾, y por otras sociedades internacionales^(20, 21). En ellas se recoge la recomendación de desaconsejar el cribado a no ser que se realice en el contexto de estudios científicos de predicción, y especialmente en ensayos de prevención de la DM1⁽¹⁹⁾.

La presencia de autoinmunidad en los sujetos portadores de la enfermedad conlleva, por una parte, la frecuente asociación a ciertos genes de predisposición, y por otra, a fenómenos de autoinmunidad humoral (en forma de autoanticuerpos) y celular, que pueden ser detectados a nivel periférico tanto en el momento del diagnóstico clínico como en muchos casos meses o años antes de la aparición de la DM1⁽¹³⁾. La detección de fenómenos de autoinmunidad y de alteraciones en la insulino-secreción en el período preclínico, y por tanto asintomático, de la DM1 dio lugar a que se acuñara el término de prediabetes tipo 1 para designar esta fa-

TABLA I PREVALENCIA DE LOS PRINCIPALES AUTOANTICUERPOS AL INICIO CLÍNICO DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 1

ICA	50–95%
Anticuerpos anti-GAD	50–95%
Anticuerpos anti-IA2	50–90%
Anticuerpos anti-insulina	30–90%

se de la enfermedad⁽²²⁾. En la predicción de riesgo de DM1 se distinguen tres tipos de marcadores: inmunológicos, genéticos y metabólicos, que a continuación comentamos.

Marcadores inmunológicos

Entre los diferentes fenómenos inmunológicos detectables antes o al inicio de la DM1, nos centraremos en aquellos con aplicabilidad actual en la predicción. No revisaremos, por tanto, los datos histológicos a nivel del órgano diana ni los fenómenos de inmunidad celular detectables a nivel periférico. En el primer caso el motivo es su no aplicabilidad clínica, y en el segundo, la falta de consistencia y poca reproducibilidad obtenidas en los métodos de determinación hasta ahora, aunque se están realizando considerables esfuerzos para poder obtener una adecuada estandarización⁽²³⁾. Los marcadores actualmente medibles por técnicas asequibles y reproducibles, y con una estandarización suficiente son algunos de los anticuerpos dirigidos contra determinados antígenos de célula β , uno o varios de los cuales se encuentra presentes al inicio clínico de la DM1 en al menos un 90% de sujetos (Tabla I). En este apartado nos centraremos en los más frecuentes, y con utilidad para identificar el proceso autoinmune antes de que la enfermedad se manifieste.

TABLA II ANTÍGENOS FRENTE A LOS QUE SE HAN IDENTIFICADO AUTOANTICUERPOS EN LA DIABETES MELLITUS TIPO 1

ICA	Insulina
GAD 65 y GAD 67	Glucagón
Tirosín fosfatasa IA2 / ICA512	Carboxipeptidasa H
Fogrina	ICA69
Heat shock proteins 65 y 62	Periferina
Sulfátidos	GLIMA 38
Imogen 38	Albúmina sérica bovina (péptido ABBOS)
GLUT-2	p69

te clínicamente⁽¹⁴⁾. Se han identificado múltiples antígenos de célula b, frente a los cuales existe una respuesta en forma de anticuerpos o una respuesta inmune celular detectable (Tabla II)⁽²⁴⁾. Un gran número de estudios ha confirmado la presencia de muchos de estos anticuerpos en el suero de sujetos que desarrollan la enfermedad meses-años antes de que la DM1 aparezca clínicamente⁽²⁵⁾. Actualmente, se utilizan en la predicción de la enfermedad varios autoanticuerpos dirigidos contra diferentes antígenos de la célula β : los anticuerpos dirigidos contra el citoplasma de las células del islote (ICA), los anticuerpos dirigidos contra la isoforma 65 de la enzima descarboxilasa del ácido glutámico (anti-GAD), contra la tirosín-fosfatasa de membrana IA2 (anti-IA2), y los autoanticuerpos anti-insulina (IAA)⁽¹³⁾. Diferentes estudios han demostrado que la combinación de 2 o más anticuerpos de los mencionados aumentan la capacidad de predicción de la DM1 en poblaciones de riesgo^(8, 13). Debido a su mayor coste y dificultad metodológica los ICA han sido desplazados como test de cribado de primera línea por la combinación de la determinación de anticuerpos anti-GAD

y anti-IA2^(26, 27). Éstos pueden ser cuantificados de manera más precisa, y su determinación puede incluso realizarse de manera combinada por un mismo método⁽²⁷⁾. La determinación combinada de autoanticuerpos anti-GAD y anti-IA2 permite predecir con una elevada sensibilidad (de hasta más de un 85%) y especificidad (de hasta un 98%) el desarrollo de la enfermedad en FPG de pacientes con diabetes mellitus tipo 1⁽²¹⁾. A los autoanticuerpos mencionados se añaden, principalmente en edad pediátrica, los autoanticuerpos anti-insulina que en caso de estar presentes en FPG aumentan el riesgo de desarrollo de una DM1^(28, 29). Por tanto, en los estudios de predicción en sujetos menores de 10 años se recomienda la combinación de anti-GAD e IAA para el cribado de primera línea⁽²¹⁾. Aquellos sujetos con positividad para mayor número de anticuerpos, y con títulos más elevados de los mismos son los que presentan un riesgo mayor de desarrollo de DM1. En caso de identificación de positividad para alguno de los anticuerpos en el cribado de primera línea, se debe completar la caracterización del riesgo mediante la determinación de un tercer, y preferiblemente, tam-

bién un cuarto anticuerpo^(19, 21). Por tanto, se recomienda como cribado de segunda línea la determinación de ICA e IAA, siendo substituida esta última especificidad por los anticuerpos anti-IA2 en sujetos menores de 10 años. Sin embargo, en la actualidad en la población general para estas mismas combinaciones de autoanticuerpos los datos disponibles son insuficientes para establecer unos adecuados niveles de sensibilidad y especificidad en la predicción^(30, 31). Es necesario, por tanto, realizar más estudios en población general, antes de poder aplicar una estrategia predictiva, y por tanto, posteriormente también preventiva.

Marcadores genéticos

La DM1 es una entidad en la que existe un substrato genético de predisposición de naturaleza poligénica⁽³²⁾. Probablemente, los factores genéticos actúan no sólo como factores de predisposición, sino como factores moduladores de la intensidad y la cronobiología de la agresión autoinmune contra la célula productora de insulina⁽¹⁵⁾. La susceptibilidad viene conferida por alelos relativamente comunes en la población, de genes por lo demás normales, que ocurrirían en combinaciones desfavorables. Desde el punto de vista genético, la DM1 es una enfermedad compleja⁽³³⁾. En torno a un 10-15% de los casos de DM1 tienen o tendrán algún familiar de primer grado afectado por la misma, sean progenitores, hermanos o hijos. El riesgo global en FPG es 20 veces superior al de la población general⁽³³⁾. Entre ellos los que presentan mayor riesgo son los hermanos de probandos con DM1⁽³⁴⁾. La concordancia entre hermanos está en torno a

6%, siendo del 15% para hermanos HLA idénticos, y 50% para gemelos monocigotos⁽³⁵⁾.

La región del genoma humano en la cual se ha encontrado un mayor ligamiento con la enfermedad es la que codifica los antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II, que se identifica como la región IDDM1⁽³⁶⁾. Dicha asociación varía según el grupo étnico y el entorno geográfico⁽³³⁾. En concreto en población europea de raza blanca, los haplotipos de mayor riesgo están asociados a DR3 y DR4, y en particular a determinados haplotipos DQ asociados respectivamente a los mismos: DQ A1*0501 – DQ B1*0201, y DQ A1*0301- DQ B1*0302^(37, 38). En cambio, el haplotipo DR2 asociado a DQ A1*0102 – DQ B1*0602 confiere protección para la DM1⁽³²⁾. Con el conocimiento actual podemos afirmar que la susceptibilidad conferida por IDDM1 estaría en torno a un 45%, no existiendo ninguna otra región del genoma con el mismo nivel de ligamiento a DM1⁽³⁹⁾. Existen otros posibles genes de susceptibilidad para el desarrollo de la enfermedad fuera de la región HLA^(32, 39), con menor contribución a la susceptibilidad para el desarrollo de la enfermedad, entre los que destaca el gen de la insulina (IDDM2) que contribuiría en torno a un 10%⁽³³⁾.

Es importante precisar que no existe ningún defecto genético que haya podido ser asociado a la presencia de la enfermedad, y que las evidencias de ligamiento o asociación genética de la enfermedad lo son en tanto que variantes de genes, que por otra parte pueden ser calificados como normales. Además, no existe ningún gen o forma

TABLA III FASES EN EL DESARROLLO DE UNA ESTRATEGIA PREVENTIVA EN DIABETES MELLITUS TIPO 1

1. Identificación del tratamiento candidato

- Planteamiento de la eficacia teórica según conocimiento patogénico
- Evaluación de la eficacia en otras enfermedades autoinmunes
- Evaluación de la eficacia en modelos animales

2. Estudio preclínico de eficacia y seguridad

- Estudio en modelos animales: ratón NOD y rata BB
- Estudio de toxicidad en animales

3. Evaluación clínica

- Población control
- Pacientes al inicio clínico: secreción de péptido C como objetivo primario
- Población de riesgo: FPG, o grupos de riesgo de población general. Objetivos primarios: prevención de DM, y evolución de autoanticuerpos
- Consideración de ensayos de prevención primaria

alélica que nos permita predecir de manera precisa la DM1. Por tanto, no se puede recomendar la determinación de los marcadores genéticos que han mostrado asociación con la diabetes tipo 1, principalmente los HLA de clase II, como método inicial de cribado de riesgo^(19, 20). Es cierto, sin embargo, que la determinación de alelos HLA ayuda a delimitar el nivel de riesgo o de protección contra la enfermedad, cuando se añaden a la determinación inicial de autoanticuerpos⁽³⁷⁾. En este sentido, ya existen estudios de prevención que han utilizado la determinación de HLA de riesgo o protección como método para dar mayor precisión a la definición de riesgo, y como criterio de inclusión o exclusión en los ensayos^(17, 40, 41).

Marcadores metabólicos

El principal marcador metabólico para completar la evaluación del riesgo en sujetos portadores de autoanticuerpos consiste en la medición de la primera fase de insulinos secreción mediante

la realización de un test de tolerancia intravenosa a la glucosa (TTGIV)⁽⁴²⁾. La disminución en la insulinos secreción precoz es detectable antes de que aparezcan alteraciones en la tolerancia oral a la glucosa⁽⁴³⁾. Por tanto, la disminución de dicha fase de insulinos secreción permite detectar aquellos sujetos con positividad para autoanticuerpos con mayor riesgo de desarrollar la enfermedad a corto plazo^(44, 45). Sin embargo, la normalidad de este parámetro de insulinos secreción no excluye el elevado riesgo de desarrollar la DM1 en FPG a más largo plazo. La evaluación de la insulinos secreción precoz, y de la tolerancia oral a la glucosa constituyen métodos de evaluación de riesgo y de seguimiento de rutina en ensayos de prevención primaria y secundaria.

PREVENCIÓN DE LA DM AUTOINMUNE

Una serie de hechos hacen que la prevención de la DM1 sea especial-

mente problemática: la baja prevalencia de la enfermedad, la procedencia de hasta un 90% de casos de la población general, añadiéndose una etiología multifactorial más que probable, y la posibilidad de que existan varios eventos iniciadores. Los estudios de prevención requieren un elevado esfuerzo en recursos y tiempo de duración de los ensayos, ya que se deben prolongar durante años. Además, requieren la colaboración multicéntrica, y frecuentemente multinacional, para poder reclutar en el caso de FPG un número suficiente de sujetos. Además, el desarrollo de una estrategia preventiva en DM1 comporta una serie de etapas hasta que el tratamiento en concreto pueda llegar a su aplicación en ensayos de prevención en humanos (Tabla III)⁽¹⁸⁾.

En el terreno de la prevención de la DM1, distinguimos en primer lugar la prevención primaria, que implica la intervención cuando tan sólo existe susceptibilidad, sin signo alguno de enfermedad. La prevención secundaria comporta una intervención cuando existen signos de autoinmunidad, con o sin alteración funcional insulinosecretora. Por último, la prevención terciaria supone una intervención al inicio clínico de la diabetes, cuando aún existe secreción residual de insulina. Utilizando estas diferentes aproximaciones a la prevención, se han ensayado en las dos últimas décadas múltiples estrategias que se resumen en la tabla IV. Como veremos más adelante, la mayoría de estos tratamientos han sido utilizados inicialmente en prevención terciaria (al inicio clínico de la DM1) con resultados diversos, y posteriormente se han ensayado o lo están siendo en FPG de pacientes con DM1^(10, 17, 18, 46).

TABLA IV PRINCIPALES ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS EN LA PREVENCIÓN DE LA DIABETES MELLITUS TIPO I

- Inmunosupresión generalizada (ciclosporina, azatioprina, corticoides)
- Agentes antiinflamatorios (ketotifeno)
- Protección frente a radicales libres (nicotinamida, desferroxamina)
- Reposo de célula beta (insulina)
- Inmunomodulación no específica o semiespecífica (inmunoglobulinas, citocinas, BCG, anticuerpos monoclonales, plasmaféresis)
- Inducción de tolerancia antigénica (insulina oral / parenteral, DiaPep277, y otros péptidos o ligandos peptídicos)
- Auténtica prevención primaria (evitación leche de vaca)

TABLA V POSIBLES ESTRATEGIAS PREVENTIVAS DE BASE INMUNOLÓGICA

Alteración del umbral de activación inmune

- Bloqueo de factores coestimuladores
- Antagonización de citocinas con acción inflamatoria
- Administración de citocinas protectoras

Modulación de células antígeno-específicas

- Inducción de células reguladoras: administración de antígeno por diversas vías
- Alteración de ligandos peptídicos
- «Vacunas» anti-receptor de células T
- Inducción de tolerancia B
- Desviación de la respuesta inmune: Th1 a Th2

Reconstitución del sistema inmune

- Células madre autólogas
- Células madre de donante

Protección del órgano diana

- Antagonismo de moléculas efectoras: ej. citocinas
- Agentes antiinflamatorios
- Inhibición de metaloproteasas de matriz
- Inhibición de sintetasa de óxido nítrico

La mayoría de las estrategias preventivas son de base inmunológica⁽⁴⁶⁾. La tabla V resume de manera actualizada las posibles estrategias de base inmunológica aplicadas, o de posible aplicación futura en la prevención de la DM1^(46, 47). Existe un concepto, que sirve de base de algunas de ellas, que destacaremos aquí: el de la inducción de

tolerancia inmunológica⁽⁴⁸⁾. La tolerancia inmunológica se puede definir como un proceso fisiológico dentro del sistema inmunitario que engloba el conjunto de procesos destinados a eliminar o neutralizar la acción de las células T autorreactivas, y por tanto, a proteger antígenos tisulares propios⁽⁴⁹⁾. La inducción de tolerancia se puede conse-

guir mediante la administración de un antígeno a determinadas dosis, que pueden producir el fenómeno de tolerancia por diversos mecanismos: inducción de supresión activa, delección clonal o anergia clonal⁽⁴⁸⁾. La inducción de tolerancia se puede conseguir administrando el antígeno por vía parenteral, o a través de mucosas⁽⁴⁸⁾. En concreto, la inducción de tolerancia mediante administración del antígeno por vía intestinal recibe el nombre de inducción de tolerancia oral. Este tipo de intervención ha sido utilizada en diversos modelos animales de enfermedad autoinmune, incluyendo la diabetes tipo 1, en la que se ha ensayado con éxito mediante la administración de insulina, GAD y otros péptidos procedentes de antígenos⁽¹⁶⁾. También se han realizado, y aún se ensaya la administración de algunos antígenos en humanos como veremos posteriormente.

A continuación, pasaremos a revisar los estudios más recientes planteados para el ensayo de estrategias preventivas de la DM1.

Prevención primaria: el estudio TRIGR

Un concepto que ha hecho fortuna, aunque no existen pruebas directas de su implicación como mecanismo patogénico en enfermedades autoinmunes es el del mimetismo molecular⁽⁵⁰⁾. Según este concepto la exposición a antígenos no propios aunque con parte de sus cadenas peptídicas homólogas a antígenos propios puede llegar a provocar la inducción de una respuesta autoinmune con reactividad cruzada a estos antígenos, que evolucione a enfermedad⁽⁵⁰⁾. Esto explicaría la presencia de anticuerpos dirigidos contra pépti-

dos como la albúmina sérica bovina o alguno de sus péptidos en pacientes diabéticos al inicio clínico de la enfermedad^(51, 52). Este concepto patogénico tan atractivo, ha llevado a explicar la asociación de la DM1 en algunas poblaciones con la exposición precoz a las proteínas de leche de vaca⁽⁵³⁾. Tras haberse comprobado dicha asociación en estudios epidemiológicos en algunas poblaciones, a principios de 2002 se inicia el estudio TRIGR (Trial to Reduce IDDM in the Genetically at Risk)^(17, 40). Este es un estudio de (auténtica) prevención primaria consistente en un ensayo clínico aleatorizado a doble ciego controlado con placebo en recién nacidos FPG de DM1, portadores de haplotipos HLA de riesgo (y no portadores de HLA de protección), en el que se compara la alimentación con una fórmula con proteínas de leche de vaca frente a una fórmula con hidrolizado de caseína tras lactancia materna (si se produce) en los 6 a 8 primeros meses de vida⁽⁴⁰⁾. Se prevé una duración mínima del ensayo de 5 años, en el que será necesario reclutar más de 1200 sujetos en cada rama del ensayo. En Finlandia, donde se encuentra el grupo promotor, los estudios piloto previos han mostrado que el ensayo era factible, y los resultados inmunológicos preliminares indican una menor inducción de autoinmunidad contra la célula β en aquellos sujetos alimentados con productos libres de proteínas de leche de vaca⁽⁴⁰⁾. Dos centros coordinadores de nuestro país van a participar en el estudio TRIGR.

Prevención secundaria: los estudios DPT-1, y ENDIT

En este momento, se están llevan-

do a cabo otros dos estudios a gran escala, en este caso de prevención secundaria de la enfermedad: Type 1 Diabetes Prevention Trial (DPT-1) en Estados Unidos^(39, 52), y el estudio ENDIT (European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial) en Europa⁽²⁵⁾. Se trata de sendos ensayos clínicos controlados de prevención secundaria en FPG de diabéticos tipo 1, y portadores de autoanticuerpos. Ambos ensayos son multicéntricos, y en el caso de ENDIT, multinacional (24 países de Europa, y Canadá) debido a que para conseguir reclutar un número suficiente de sujetos ha sido necesario cribar casi 90.000 familiares en el DPT-1, y unos 30.000 en el caso de ENDIT.

El estudio DPT-1, utiliza el tratamiento con insulina oral o parenteral en dos ramas del ensayo, una de las cuales se encuentra aún en fase de realización, y por tanto, pendiente de resultados. La base de la utilización de la insulina como tratamiento preventivo proviene de estudios en modelos animales de la enfermedad por una parte^(55, 56), y por otra, de estudios en prediabetes tipo 1 o al inicio clínico de la DM1 en humanos^(57, 58). En esencia, la insulina, único autoantígeno específico de célula β , cuando es administrada a determinadas dosis (oral o parenteral) puede inducir tolerancia inmunológica con predominio de la respuesta supresora de la inmunidad, determinando una disminución o abolición del daño autoinmune⁽¹⁷⁾. Se ha comprobado en estudios en humanos y en modelos animales que la insulina administrada por vía parenteral a dosis elevada promueve los que se ha dado en llamar «reposo funcional de la célula β »^(17, 56), lo que comporta por una par-

te el mantenimiento de la reserva de secreción insulínica residual, y por otra el hecho de que la menor demanda funcional sobre la célula β la haga menos susceptible al daño inmunológico^(17,57). Estos conceptos dieron lugar al planteamiento de dos ramas del ensayo. Una de ellas, que ha finalizado recientemente, ensayaba el tratamiento con insulina parenteral (endovenosa durante un único período de 4 días anualmente, y subcutánea en dos dosis diarias) en un estudio clínico abierto controlado aleatorizado en FPG de 3 a 45 años o segundo grado de 3 a 20 años positivos para ICA (título > 10 unidades JDF) y con riesgo elevado (> 50% de desarrollar enfermedad a los 5 años) definido por la primera fase de insulino-secreción tras TTGIV, o la presencia de alteración de tolerancia oral a la glucosa. Dicho estudio se inició en 1994, y ha finalizado en Abril de 2001, lamentablemente con un resultado negativo⁽¹³⁾. Estos resultados no excluyen el posible efecto de la insulina parenteral en sujetos en una fase más precoz de la prediabetes tipo 1. La otra rama del ensayo se basa en el concepto previamente discutido de inducción de tolerancia inmunológica mediante la administración de un antígeno, en este caso la insulina, por vía intestinal. Consiste en un ensayo clínico aleatorizado a doble ciego controlado con placebo de tratamiento con insulina oral en familiares con riesgo intermedio (24-50% de desarrollo de diabetes), con iguales condiciones que la otra rama del estudio, excepto en el criterio de deterioro insulinosecretor (respuesta insulinosecretora relativamente conservada en el TTGIV) y en el criterio de exclusión de los portadores de HLA de protec-

ción DQB1*0602. Esta parte del estudio se inició en 1996, y está aún activa. Apuntamos aquí que los dos ensayos de prevención terciaria mediante administración de insulina oral realizados hasta el momento han dado resultados negativos^(60,61). Uno de los elementos críticos en la administración de un antígeno con la intención de producir una respuesta de tolerancia es el de la dosis a administrar, ya que se sabe por los estudios en modelos animales que según la dosis del antígeno se puede obtener una inducción de tolerancia o por el contrario un aumento de la inmunogenicidad.

El otro gran ensayo de prevención secundaria es el estudio ENDIT^(17,25), que utiliza la nicotinamida a dosis elevadas como tratamiento preventivo. Su uso se fundamenta en resultados en modelos experimentales, y en ensayos pilotos de prevención secundaria y terciaria, que mostraban resultados en su mayoría positivos⁽⁶²⁻⁶⁵⁾. La nicotinamida tiene un efecto protector de la célula β a diversos niveles⁽⁶²⁾. Esta vitamina del grupo B protege frente a la acción de tóxicos de célula β , disminuyendo la inflamación en islotes, y también protegiendo frente a la acción de radicales libres. Antagoniza también la acción de citocinas, e inhibe la síntesis de óxido nítrico. Previene también la deplección de NAD en la célula, inhibiendo la acción de la enzima poli-ADP-ribosa sintetasa. El estudio ENDIT es un ensayo clínico aleatorizado de intervención con nicotinamida, doble-cego controlado con placebo, en FPG con ICA a título \geq 20 unidades JDF. El ensayo se inició en 1994, terminándose el reclutamiento de los 552 sujetos menores de 40 años en 1998,

TABLA VI PRINCIPALES ESTRATEGIAS ENSAYADAS EN PREVENCIÓN TERCIARIA DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 1

- Ciclosporina
- Azatioprina
- Insulina a dosis altas
- Deferroxamina
- Insulina oral
- Gammaglobulina e.v.
- Inmunoglobulina antilinfocítica
- Corticoides
- BCG
- Nicotinamida
- Anticuerpos anti-receptor de IL-2
- DiaPep277

con un seguimiento previsto a 5 años. En nuestro país, han participado varios centros, habiéndose incluido 35 pacientes en total. Los datos facilitados en la última reunión del estudio en Diciembre de 2000, mostraban que habían completado el estudio 136 sujetos (24,6%), otros 136 seguían activos en el estudio (24,6%), 135 sujetos habían desarrollado una diabetes mellitus (24,5%), y 145 habían abandonado el estudio (26,4%). La finalización prevista del estudio es en Abril de 2003.

Prevención terciaria, y el modelo de la diabetes tipo LADA

Aunque no comentaremos de forma extensa la experiencia en ensayos de prevención terciaria de DM1 (Tabla VI), es importante apuntar aquí diversos aspectos. En primer lugar, las principales estrategias ensayadas hasta el momento han dado resultados diversos, algunas de las cuales han sido comentadas en el apartado de prevención secundaria. Los únicos ensayos que han resultado en un efecto clínicamente sig-

nificativo, es decir la insulino-independencia fueron los que ensayaban fármacos inmunosupresores, principalmente ciclosporina^(66, 67). Por razones obvias de balance riesgo/beneficio desfavorable, dichos tratamientos no se implantaron. El resto de aproximaciones terapéuticas han tenido un éxito diverso, mostrando las que tenían algún efecto positivo sólo una preservación de la capacidad insulino-secretora residual medida como secreción de péptido C. Existen revisiones recientes que discuten detalladamente estos estudios^(10, 17, 18, 46). No debemos olvidar, sin embargo, que los estudios de prevención terciaria suponen el paso previo a la introducción de terapéuticas previas y futuras de prevención secundaria⁽¹⁸⁾, y en muchos casos, también primaria (Tabla III). Estos ensayos siguen siendo de gran valor también por otros motivos, como es la posibilidad de encontrar una terapéutica suficientemente segura para mantener la insulino-secreción residual al inicio clínico de la DM1, y que pueda contribuir a una mejor evolución del control glucémico, y putativamente, a retardar o evitar complicaciones tardías de la diabetes⁽⁶⁸⁾.

La diabetes autoinmune latente del adulto o LADA (Latent Autoimmune Diabetes in Adults) merece ser mencionada ya que puede suponer un nuevo modelo de estudio de estrategias de prevención de la DM1^(69, 70). Nos encontramos ante una entidad que supone una forma de expresión clínica de la diabetes autoinmune de una elevada prevalencia en muchas poblaciones. Parece evidente a la luz del conocimiento actual de la historia natural de la DM1 que la expresión clínica de la en-

fermedad, al menos en las fases iniciales de la misma es en muchos aspectos muy heterogénea⁽⁶⁹⁾. Prueba de esta heterogeneidad, es la existencia de una proporción relativamente importante de pacientes que inicialmente se presentan clínicamente como diabéticos tipo 2, siendo en ese momento clasificados como tales, pero que evolutivamente progresan hacia una DM1, con tendencia a corto o medio plazo a desarrollar cetosis espontánea, y con la necesidad de instaurar tratamiento insulínico^(70, 71). Este tipo de pacientes cuya DM1 se «disfraza» de diabetes tipo 2, constituye el subgrupo que se ha denominado LADA⁽⁷⁰⁾, y que constituye un claro ejemplo de la variabilidad clínica con la que se manifiesta el daño autoinmune de las células productoras de insulina. Estos sujetos presentan una fase inicial relativamente prolongada en la que se mantiene una insulino-secreción endógena residual, y que puede durar años antes de alcanzar una insulino-deficiencia completa, como ocurre en la DM1, en su forma más clásica⁽⁷²⁻⁷⁴⁾. Por tanto, se puede afirmar que estos sujetos progresan durante esta fase, equiparable a la denominada prediabetes tipo 1, hacia la destrucción completa de las células β residuales. Según criterio de varios autores^(69, 75, 76), este grupo de pacientes son candidatos ideales para la realización de estudios piloto para el ensayo de nuevos tratamientos preventivos de la DM1, ya que la monitorización de la insulino-secreción es cuantitativamente más importante que al inicio de la DM1, y por tanto, se puede conseguir una mejor sensibilidad en la evaluación de la misma. De hecho, si la prevalencia de LADA está entre 10 y 20% de los sujetos con

DM2, ello supone que este subtipo de diabetes autoinmune es al menos tan prevalente como la propia forma clásica de DM1⁽⁹⁾.

El camino que eventualmente nos debe conducir a una prevención efectiva de la diabetes mellitus autoinmune está siendo más largo de lo que probablemente se esperaba hace aproximadamente una década. A pesar de ello, el objetivo clínico de la investigación en el área de la DM1 nos debe por una parte conducir a explicar esta enfermedad humana, y por otra, a ser capaces de prevenir y tratar la enfermedad⁽⁸⁾. En este sentido, el grupo de Prediabetes tipo 1 de la Sociedad Española de Diabetes tiene como objeto de estudio la etiopatogenia y prevención de la DM1⁽¹⁹⁾, un área de investigación de la cual es difícil obtener grandes resultados a corto y medio plazo en el escenario actual, pero que sin duda debe continuar aglutinando el esfuerzo y la calidad del mayor número posible de grupos de investigación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1997;**20**:1183-1197.
2. Alberti KG, Zimmet PZ, for the WHO Consultation. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: provisional report of a WHO Consultation. *Diabet Med* 1998;**15**:539-553.
3. Mauricio D, Carreras G, Pérez A, Morales J, Puig-Domingo M, de Leiva A. Association of islet-cell and glutamic acid decarboxylase antibodies to beta-cell function after the onset

- of type 1 diabetes in adult subjects. *Diab Nutr Metab* 1997;**10**:189-192.
4. Pozzilli P, Visalli N, Buzzetti R, Cavallo MG, Marietti G, Hawa M, Leslie RDG. Metabolic and immune parameters at clinical onset of insulin-dependent diabetes: a population-based study. *Metabolism* 1998;**47**:1205-1210
 5. Imagawa A, Hanafusa T, Miyagawa JI, Matsuzawa Y, the Osaka IDDM study group. A novel subtype of type 1 diabetes mellitus characterized by rapid onset and the absence of diabetes-related antibodies. *N Engl J Med* 2000;**342**:301-307.
 6. Carreras G, Mauricio D, Pérez A, de Leiva A. May all newly-diagnosed subjects without type 1 diabetes-associated autoimmune markers be classified as type 1b diabetic patients? *Diabetes Care* 2000;**23**:1715.
 7. Tiberti C, Buzzetti R, Anastasi E, Dotta F, Vasta M, Petrone A, Cervoni M, Torresi P, Vecci E, Multani G, Di Mario U. Autoantibody negative new onset type 1 diabetic patients lacking high risk HLA alleles in a Caucasian population: are these type 1b diabetes cases? *Diabetes Metab Res Rev* 2000;**16**:8-14.
 8. Gale EAM. The discovery of Type 1 diabetes. *Diabetes* 2001;**50**:217-226.
 9. Notkins AL, Lernmark A. Autoimmune type 1 diabetes: resolved and unresolved issues. *J Clin Invest* 2001;**108**:1247-1252.
 10. Lernmark A. Type 1 diabetes. *Clin Chem* 1999;**45**:1331-1338.
 11. Bach JF. New concepts of the etiopathogenesis and treatment of insulin-dependent diabetes mellitus. *Clin Rev Allergy Immunol* 2000;**19**: 217-225.
 12. Singh B, Delovitch TL. Immune mechanisms that regulate susceptibility to autoimmune type 1 diabetes. *Clin Rev Allergy Immunol* 2000;**19**:247-264.
 13. Atkinson MA, Eisenbrath GS. Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. *Lancet* 2001;**358**:221-229.
 14. Greenbaum CJ, Brooks-Worrell BM, Palmer JP, Lenmark A. Autoimmunity and prediction of insulin-dependent diabetes mellitus. In: Marshall SM, Home PD (eds). *The Diabetes Annual/8*. Amsterdam: Elsevier Science. 1994, pp. 21-52.
 15. Nerup J, Mandrup-Poulsen T, Helqvist S, Andersen HU, Pociot F, Reimers JI, Cuartero BG, Karlsen AE, Bjerre U, Lorenzen T. On the pathogenesis of IDDM. *Diabetologia* 1994;**37**(suppl.2): S82-S89.
 16. Greiner DL, Rossini AA, Mordes JP. Translating data from animal models into methods for preventing human autoimmune diabetes mellitus: caveat emptor and primum non nocere. *Clin Immunol* 2001;**100**:134-143.
 17. Naik RG, Palmer JP. Preservation of β -cell function in type 1 diabetes. *Diabetes Reviews* 1999;**7**:154-182.
 18. Slover RH, Eisenbarth GS. Prevention of type 1 diabetes and recurrent β -cell destruction of transplanted islets. *Endocr Rev* 1997;**18**:241-258.
 19. Grupo de estudio de Prediabetes tipo 1 de la SED. Recomendaciones de la Sociedad Española de Diabetes sobre la evaluación de riesgo de Diabetes Mellitus tipo 1. *Avances en Diabetología* 2001;**17**:77-79.
 20. American Diabetes Association Position Statement. Prevention of type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1990;**13**:1026-1027.
 21. Bingley PJ, Bonifacio E, Ziegler AG, Schatz D, Atkinson MA, Eisenbarth GS. Proposed guidelines on screening for risk of type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2001;**24**:398.
 22. Srikanta S, Ganda OP, Gleason RE, Jackson RA, Soeldner JS, Eisenbarth GS. Pre-type 1 diabetes. Linear loss of beta cell response to intravenous glucose. *Diabetes* 1984;**33**:717-720.
 23. Roep BO, Atkinson MA, van Endert PM, Gottlieb PA, Wilson SB, Sachs JA, for the workshop participants. Autoreactive T cell responses in insulin-dependent (type 1) diabetes mellitus. *J Autoimmun* 1999;**13**:267-282.
 24. Schranz DB, Lernmark A. Immunology in diabetes: an update. *Diabetes Metab Rev* 1998;**14**:3-29.
 25. Gale EAM, Bingley PJ. Can we prevent IDDM? *Diabetes Care* 1994;**17**:339-344.
 26. Morales J, Puig-Domingo M, Lampasona V, Corcoy R, Dyrberg T, Mauricio D, Bonifacio E, De Leiva A. Can we replace ICA? Risk assessment by using fluid phase multi-antibody analysis in a prediabetic Spanish cohort. *Av Diabetol* 1998;**14**:91-98.
 27. Leslie RDG, Atkinson MA, Notkins AL. Autoantigens IA-2 and GAD in type 1 (insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 1999;**42**: 3-14.
 28. Ziegler AG, Ziegler R, Vardi P, Jackson RA, Soeldner JS, Eisenbarth GS. Life-table analysis of progression to diabetes of anti-insulin autoantibody positive relatives of individuals with type 1 diabetes. *Diabetes* 1989;**38**:1320-1325.
 29. Palmer JP. Predicting IDDM. Use of humoral autoimmune markers. *Diabetes Reviews* 1993;**1**:104-115.
 30. Schatz D, Krischer J, Horne G, Riley W, Spillar R, Silverstein J, Winter W, Muir A, Derovanesian D, Shah S, Malone J, Maclaren N. Islet cell antibodies predict insulin-dependent diabetes in United States school children as powerfully as in unaffected relatives. *J Clin Invest* 1994;**93**:2403-2407.
 31. Knip M, Karjalainen J, Akerblom HK, the Childhood Diabetes in Finland Study Group. Islet cell antibodies are less predictive of IDDM among unaffected children in the general population than in sibs of children with diabetes. *Diabetes Care* 1998;**21**:1670-1673.
 32. Caillat-Zucman S, Bach JF. Genetic predisposition to IDDM. *Clin Rev Allergy Immunol* 2000;**19**:227-246.
 33. Pociot F. Insulin-dependent diabetes mellitus – a polygenic disorder? *Dan Med Bull* 1996;**43**:216-248.
 34. Lorenzen T, Pociot F, Hougaard P, Nerup J.

- Long-term risk of IDDM in first-degree relatives of patients with IDDM. *Diabetologia* 1994; **37**:321-327.
35. Atkinson MA, Maclaren NK. The pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1994; **331**:1428-1435.
 36. Nepom GT. Genetic markers in IDDM: the MHC. In: Palmer J (ed). *Prediction, prevention and genetic counseling in IDDM*. Chichester: John Wiley & Sons. 1996, pp. 19-26.
 37. Thorsby E, Ronningen KS. Particular HLA-DQ molecules play a dominant role in determining susceptibility or resistance to type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1993; **36**:371-377.
 38. Van der Auwera B, Schuit F, Lyaruu I, Falorni A, Svanholm S, Vandewalle CL, Gorus FK. Genetic susceptibility for insulin-dependent diabetes mellitus in caucasians revisited: the importance of registries in disclosing interactions between HLA-DQ and insulin gene-linked risk. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; **80**:2567-73.
 39. Buzzetti R, Quattrocchi CC, Nistico L. Dissecting the genetics of type 1 diabetes: relevance for familial clustering and differences in incidence. *Diabetes Metab Rev* 1998; **14**:111-128.
 40. Paronen J, Knip M, Savilahti E, Virtanen SM, Ilonen J, Akerblom H, Vaarala O, and the Finnish Trial to Reduce IDDM in the Genetically at Risk Study Group. Effect of cow's milk exposure and maternal type 1 diabetes on cellular and humoral immunization to dietary insulin in infants at genetic risk for type 1 diabetes. *Diabetes* 2000; **49**:1657-65.
 41. DPT-1 Study Group. The Diabetes Prevention Trial-Type 1 diabetes (DPT-1): implementation of screening and staging of relatives. *Transplant Proc* 1995; **27**:3377-78.
 42. Bingley PJ, Colman P, Eisenbarth GS et al. Standardization of IVGTT to predict IDDM. *Diabetes Care* 1992; **15**:1313-16.
 43. Mauricio D, Corcoy R, Codina M, Morales J, Balsells M, de Leiva A. Islet-cell antibodies and beta cell function in gestational diabetic women: comparison to first-degree relatives of Type 1 (insulin-dependent) diabetic subjects. *Diabetic Med* 1995; **11**:1009-1014.
 44. Bleich D, Jackson RA, Soeldner JS, Eisenbarth GS. Analysis of metabolic progression to type 1 diabetes in ICA+ relatives of patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1990; **13**:11-118.
 45. Thai A-C, Eisenbarth GS. Natural history of IDDM. *Diabetes Reviews* 1993; **1**:1-14.
 46. Skyler JS, Marks JB. Immune intervention in type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Reviews* 1993; **1**:15-42.
 47. Davidson AD, Diamond B. Autoimmune diseases. *N Engl J Med* 2001; **345**:340-350.
 48. Kamradt T, Mitchison A. Tolerance and autoimmunity. *N Engl J Med* 2001; **344**:655-664.
 49. Goodnow CC. Pathways for self-tolerance and the treatment of autoimmune diseases. *Lancet* 2001; **357**:2115-2121.
 50. Albert LJ, Inman RD. Molecular mimicry and autoimmunity. *N Engl J Med* 1999; **341**:2068-2074.
 51. Virtanen SM, Saukkonen T, Savilahti E, Ylonen K, Rasanen L, Aro A, Knip M, Tuomilehto J, Akerblom HK. Diet, cow's milk protein antibodies and the risk of IDDM in Finnish children: Childhood Diabetes in Finland Study Group. *Diabetologia* 1994; **37**: 381-387.
 52. Karjalainen J, Martin JM, Knip M, Ilonen J, Robinson BH, Savilahti E, Akerblom HK, Dosch H-M. A bovine albumin peptide as a possible trigger of insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1992; **327**:302-307.
 53. Gerstein HC, Van der Meulen. The relationship between cow's milk exposure and type 1 diabetes. *Diabet Med* 1996; **13**:23-29.
 54. Yu L, Cuthbertson DD, Maclaren N, Jackson R, Palmer JP, Orban T, Eisenbarth GS, Krischer JP, and the DPT-1 participating Investigators. Expression of GAD65 and islet-cell antibody (ICA512) autoantibodies among cytoplasmic ICA+ relatives is associated with eligibility for the Diabetes Prevention Trial-Type 1. *Diabetes* 2001; **50**:1735-1740.
 55. Gotfredsen CF, Buschard K, Frandsen EK. Reduction of diabetes incidence of BB Wistar rats by early prophylactic insulin treatment of diabetes-prone animals. *Diabetologia* 1985; **28**:933-935.
 56. Atkinson MA, Maclaren NK, Luchetta R. Insulinitis and diabetes in NOD mice reduced by prophylactic insulin therapy. *Diabetes* 1990; **39**:933-937.
 57. Keller RJ, Eisenbarth GS, Jackson RA. Insulin prophylaxis in individuals at high risk of type 1 diabetes. *Lancet* 1993; **341**:927-928.
 58. Shah SC, Malone JI, Simpson NE. A randomized trial of intensive insulin therapy in newly diagnosed insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1989; **320**:550-554.
 59. Aaen K, Rygaard J, Josefsen K, Petersen H, Brogren CH, Horn T, Buschard K. Dependence of antigen expression of functional state of β -cells. *Diabetes* 1990; **39**:697-701.
 60. Chaillous L, Lefèvre H, Thivolet C, Boitard C, Lahlou N, Atlan-Gepner C, Bouhanick B, Mogenet A, Nicolino M, Carel JC, Lecomte P, Maréchaud R, Bougnères P, Charbonnel B, Saï P, for the Diabète Insuline Oral Group. Oral insulin administration and residual β -cell function in recent-onset type 1 diabetes: a multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 2000; **356**:545-549.
 61. Pozzilli P, Pitocco D, Visalli N, Cavallo MG, Buzzetti R, Crino A et al. No effect of oral insulin on residual beta-cell function in recent-onset type 1 diabetes (the IMDIAB VII). *Diabetologia* 2000; **43**:1000-1004.
 62. Mandrup-Poulsen T, Reimers JI, Andersen HU, Pociot F, Karlens AE, Bjerre U, Nerup J. Nicotinamide treatment in the prevention of insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Metab Rev* 1993; **9**:295-309.
 63. Pozzilli P, Browne PD, Kolb H, the Nicotinamide Trialists. Meta-analysis of nicotinamide treatment

- in patients with recent-onset IDDM. *Diabetes Care* 1996;**19**:1357-1363.
64. Elliott RB, Pilcher CC, Fergusson DM, Stewart AW. A population based strategy to prevent insulin-dependent diabetes using nicotinamide. *J Pediatr Endocrinol Metab* 1996;**9**:501-509.
65. Lampeter EF, Klinghammer A, Scherbaum WA, Heinze E, Haastert B, Giani G, Kolb H, and the DENIS Group. The Deutsche Nicotinamide Intervention Study. An attempt to prevent type 1 diabetes. *Diabetes* 1998;**47**:980-984.
66. Assan R, Feutren G, Debray-Sachs M, Quiniou-Debrie MC, Laborie C, Thomas G, Chatenoud L, Bach JF. Metabolic and immunological effects of cyclosporin in recently diagnosed type 1 diabetes mellitus. *Lancet* 1985;**i**:167-171.
67. The Canadian-European Randomized Control Trial Group. Cyclosporin-induced remission of IDDM after early intervention: association of 1 year of cyclosporin treatment with enhanced insulin secretion. *Diabetes* 1988;**37**:1574-1582.
68. Kolb H, Gale EAM. Does partial preservation of residual beta-cell function justify immune intervention in recent onset Type I diabetes? *Diabetologia* 2001;**44**:1349-1353.
69. Zimmet PZ. The pathogenesis and prevention of diabetes in adults. Genes, autoimmunity, and demography. *Diabetes Care* 1995;**18**:1050-1064.
70. Leslie RDG, Pozzilli P. Type I diabetes masquerading as type II diabetes: possible implications for prevention and treatment. *Diabetes Care* 1994;**17**:1214-1219.
71. Zimmet P, Turner R, McCarty D, Rowley M, Mackay I. Crucial points at diagnosis. Type 2 diabetes or slow type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1999;**22**(suppl.2): B59-B64.
72. Zimmet PZ, Tuomi T, Mackay IR, Rowley MJ, Knowles W, Cohen M. Latent autoimmune diabetes mellitus in adults (LADA): role of antibodies to glutamic acid decarboxylase in diagnosis and prediction of insulin dependency. *Diabetic Med* 1994;**11**:299-303.
73. Turner R, Stratton I, Horton V, Manley S, Zimmet P, Mackay IR, Shattock M, Bottazzo GF, Holman R, for the UK Prospective Diabetes Study (UKPDS). UKPDS25: autoantibodies to islet-cell cytoplasm and glutamic acid decarboxylase for prediction of insulin requirement in type 2 diabetes. *Lancet* 1997;**350**:1288-1293.
74. Tuomi T, Groop LC, Zimmet PZ, Rowley MJ, Knowles W, Mackay IR. Antibodies to glutamic acid decarboxylase reveal latent autoimmune diabetes mellitus in adults with a non-insulin dependent onset of disease. *Diabetes* 1993;**42**:359-362.
75. Mauricio D, de Leiva A. Autoimmune gestational diabetes: a distinct clinical entity? *Diabetes Metab Res Rev* 2001;**17**:422-428.
76. Pozzilli P, Di Mario U. Autoimmune diabetes not requiring insulin at diagnosis (Latent Autoimmune Diabetes of The Adult). Definition, characterization, and potential prevention. *Diabetes Care* 2001;**24**:1460-1467.

Polimorfismo genético de la ECA y su asociación con la presencia de albuminuria en la población con Diabetes Mellitus tipo 2

J.A. Rubio¹, M.A. Rubio², J. Alvarez¹, E. Cancér¹

¹Servicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital Universitario Príncipe de Asturias, Alcalá de Henares. ²Hospital Clínico Universitario de San Carlos, Madrid.

Correspondencia: J.A. Rubio, Hospital Universitario Príncipe de Asturias, Carretera Alcalá Meco s/n, Alcalá de Henares, 28800 Madrid. E-mail: jarubio@teleline.es

Aceptado: Julio 2001.

RESUMEN: La Diabetes Mellitus (DM) tipo 2 se asocia con un mayor riesgo cardiovascular, riesgo que está aumentado con la presencia de albuminuria en orina. En los últimos años el polimorfismo genético D/I de la enzima de conversión de la angiotensina (ECA) se ha asociado con aumento de excreción de albuminuria urinaria (EAU) y por tanto como predictor de nefropatía diabética. Nos planteamos estudiar la asociación entre polimorfismo de la ECA y presencia de albuminuria en nuestra población con DM tipo 2. 66 sujetos con DM tipo 2 (36 mujeres, 30 varones) de 62,2(9,1) años seguidos en consultas externas se les realizó perfil básico, lipídico, cuantificación de EAU y determinación del polimorfismo de la ECA. En 32 sujetos tenían aumento de EAU (> 30 mg/día) y 34 eran normoalbuminúricos. La distribución del polimorfismo en la población estudiada fue: DD 25(38%), DI 36(54%) y II 5(8%), no existiendo diferencias entre ambos grupos. En conclusión no encontramos asociación entre el polimorfismo D/I de la ECA y presencia de albuminuria en nuestra población con DM tipo 2.

PALABRAS CLAVE: Polimorfismo genético de la ECA; Diabetes Mellitus tipo 2; Albuminuria; Nefropatía diabética; Factores de riesgo cardiovascular; Cardiopatía isquémica.

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM) tipo 2 se asocia con un mayor riesgo de padecer eventos cardiovasculares, considerándose un modelo de aterosclerosis prematura con un importante componente genético. Este elevado riesgo, estimado en 3-5 veces superior que en la población no diabética⁽¹⁾, no se explica suficientemente bien por la hiperglucemia o por la asociación con otros factores de riesgo conocidos como la hipertensión o la dislipemia; además los factores genéticos, no sólo desempeñan un papel en la aparición de la DM tipo 2 si no que también podría contribuir a la aparición de complicaciones crónicas.

En los últimos años, diversos estudios han demostrado la asociación entre polimorfismo D/I del gen de la ECA y presencia de cardiopatía isquémica (CI) tanto en población diabética como no diabética⁽²⁻⁵⁾. Este polimorfismo D/I se denomina así de acuerdo con la presencia o ausencia respectivamente del intrón 16 de 287 bp del gen de la ECA y regula la actividad de la ECA a nivel plasmático y tisular, existiendo una re-

lación entre CI, alelo D y mayor nivel de la ECA⁽⁶⁾.

Por otro lado la presencia de albuminuria en la población con DM tipo 2 es un potente predictor de enfermedad cardiovascular⁽⁷⁾ y puesto que su presencia también se ha asociado con el polimorfismo de la ECA, así como, con la eficacia en la reducción de la albuminuria por los inhibidores la ECA⁽⁸⁻¹²⁾, creemos que sería interesante estudiar la asociación entre albuminuria y polimorfismo D/I de la ECA en una población con DM tipo 2.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trata de un estudio de corte transversal que estudia una población de 66 pacientes con DM tipo 2, de edad 62,2^(9,1) años, 36 mujeres y 30 varones, que eran atendidos de forma habitual en consultas de Endocrinología de dos centros periféricos de especialidades del área 3 y 7 de salud de Madrid. La selección se realizó según orden de atención en consultas.

En todos los pacientes se recogió historia clínica de su enfermedad si-

guiendo las prácticas habituales, haciendo especial hincapié en los factores de riesgo cardiovascular. Se consideró que un paciente tenía cardiopatía isquémica si había sufrido un episodio de angor o un IAM.

Se realizó determinación analítica rutinaria que incluía perfil básico y lipoproteico, ECG, HbAl c, cuantificación de la EAU de 24 horas y se tomó muestra de sangre para estudio genético, que fueron almacenadas a -70°C hasta su procesamiento.

Para realizar el análisis de los datos se diferenciaron dos grupos:

- Albuminuria negativa, si la EAU era $< 30\text{ mg}/24\text{ y}$
- Albuminuria positiva, si la EAU era $> 30\text{ mg}/24$ en al menos dos determinaciones separadas en un tiempo no inferior a 6 meses.

Determinaciones analíticas

Todas las determinaciones básicas fueron realizadas en autoanalizador

Hitachi siguiendo técnicas estandarizadas. El c-LDL fue estimado mediante la fórmula de Friedewald, la determinación de apolipoproteínas se realizó mediante método nefelométrico automatizado y la de Lp(a) se realizó por inmunoensayo. La determinación de HbAl c se realizó por HPLC, siendo el valor normal en nuestro laboratorio entre 4-6%. La EAU se determinó por nefelometría.

Determinación del genotipo (D/I) de la ECA

Tras extracción de ADN de los leucocitos se sangre periférica según técnicas estandarizadas⁽¹³⁾, el polimorfismo se determinó mediante la reacción de la cadena polimerasa (PCR)

según metodología descrita por Rigat et al.⁽¹⁴⁾, mediante 2 primer específicos y añadiendo un 5% de dimetilsulfóxido para potenciar la amplificación del alelo I en las muestras heterocigóticas⁽¹⁵⁾.

El producto PCR fue visualizado en agarosa al 2% con bromuro de etidio y posteriormente fotografiado. La calificación del genotipo se realizó por duplicado y de forma ciega para los datos analíticos y clínicos. Los sujetos se clasificaron como homocigotos para II o DD, o heterocigotos DI.

Análisis estadístico y consideraciones éticas

Se realizó mediante la t-Student para las variables cuantitativas y mediante la Chi-cuadrado para las variables cualitativas. Se consideró significativo para una $p < 0,05$. Los resultados son expresados en media (DE) para las variables cuantitativas o en su valor absoluto (%) para las cualitativas.

Aunque el estudio no representa ninguna desviación de la práctica habitual clínica ni ningún riesgo añadido para el paciente, el estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínico de San Carlos y se les pidió a los pacientes su consentimiento informado.

RESULTADOS

En la tabla I se resumen los datos clínicos y analíticos de los sujetos estudiados. Treinta y dos pacientes pertenecían al grupo de albuminuria positiva, 26 con microalbuminuria (EAU entre 30 y 300 mg/24h) y 6 con proteinuria clínica (EAU $> 300\text{ mg}/24\text{h}$),

y 34 pertenecían al grupo con albuminuria negativa.

Como podemos observar el grupo de pacientes con albuminuria positiva mostró cifras mayores de presión arterial sistólica (PAS), un mayor índice cintura-cadera, y concentraciones mayores de ácido úrico, encontrando una correlación positiva entre las tres variables ($p < 0,05$). En el grupo con albuminuria positiva también hubo un mayor porcentaje de pacientes que presentaron cardiopatía isquémica, 37% versus 11 %, (RR 3,3); sin embargo no observamos diferencias en el resto de los parámetros analizados incluyendo perfil lipoproteico y HbAl c.

La distribución genotípica del polimorfismo de la ECA en la población estudiada fue de: DD 25(38%), DI 36(54%) y II 5(8%). En la tabla II se presenta la distribución del polimorfismo genético, no demostrándose diferencias significativas entre ambos grupos analizados. Tampoco demostramos una asociación entre el polimorfismo D/I con la presencia de cardiopatía isquémica, hipertensión arterial ni con la retinopatía diabética (datos no mostrados).

DISCUSIÓN

En nuestro estudio los sujetos con albuminuria positiva tienen un riesgo casi 3 veces mayor de presentar cardiopatía isquémica en comparación con el grupo con normoalbuminuria, resultados que coinciden con los publicados por otros autores⁽⁷⁾. También observamos niveles mas elevados de PAS y de ácido úrico, sin embargo no presentamos diferencias en las lipoproteínas ni

TABLA I DATOS CLÍNICOS Y ANALÍTICOS DE LOS SUJETOS DEL ESTUDIO

	Albuminuria positiva	Albuminuria negativa	p
n	32	34	
Edad (años)	63,8 (9,4)	60,6 (8,8)	0,151
Años de evolución (años)	13,4 (6,7)	11 (8,2)	0,2
IMC (Kg/m ²)	29,4 (4,4)	29,4(5,7)	0,989
Índice cintura-cadera	0,94 (0,07)	0,89 (0,06)	0,004*
PAS (mmHg)	152 (16)	138,5 (17,7)	0,002*
PAD (mmHg)	79,5 (12,3)	79,2 (10)	0,897
HTA(%)	24 (75)	16 (47)	0,038*
Retinopatía (%)	10 (31)	12 (37)	0,316
Cardiopatía isquémica (%)	12 (37)	4 (11)	0,031*
ACV(%)	2(6)	0 (0)	-
Vasculopatía periférico (%)	5 (15)	0 (0)	0,053
Glucemia (mg/dL)	183,9 (63)	197,4 (58)	0,370
HbA1c (%)	7,5(1,3)	7,4 (1,3)	0,591
Acido úrico (mg/dL)	5,6 (1,5)	4,7 (1,2)	0,023*
EAU (mg/24h)	217(257)	1 3,3 (6,4)	<0,001*
Aclaramiento de creatinina (mi/min)	90,7 (20,5)	94,5 (25,1)	0,511
LDL-colesterol (mg/dl)	132,2 (29,5)	140,3 (35)	0,339
Triglicéridos (mg/dl)	162,2 (88,2)	151,2 (71,4)	0,578
HDL-colesterol (mg/dL)	54 (16,7)	56 (17)	0,646
apo A1 (mg/dL)	168 (28,2)	169,9 (33,1)	0,844
apo B (mg/dL)	129 (19,4)	128,1 (31,5)	0,904
Lp(a) (mg/dL)	55,6 (67,9)	30,2 (31,3)	0,072

TABLA II POLIMORFISMO D/I DE LA ECA EN LOS SUJETOS DEL ESTUDIO

Genotipo	Albuminuria positiva	Albuminuria negativa	p
DD (%)	14 (43,7)	11 (32,3)	0,623
D1 (%)	16 (50)	20 (58,8)	
II (%)	2 (6,2)	3 (8,8)	

en la HbA1c, sugiriendo que este mayor riesgo cardiovascular no está mediado por factores lipídicos o por el control glucémico. Las concentraciones más elevadas de ácido úrico y el mayor índice cintura-cadera detectados en los diabéticos con albuminuria es un reflejo del mayor riesgo cardiovascular de estos pacientes⁽¹⁶⁾ y probable-

mente esté en relación con un mayor grado de insulinresistencia en los mismos⁽¹⁷⁾.

En la actualidad se sostiene que la presencia de albuminuria en la DM tipo 2 se asocia con el grado de insulinresistencia que presenta el paciente⁽¹⁸⁾ y/o refleja una daño vascular generalizado⁽¹⁹⁾ probablemente mediado por el

Sistema Renina Angiotensina (SRA), que predispone a esta población a presentar una mayor frecuencia de eventos cardiovasculares.

La distribución genotípica del polimorfismo de la ECA, DD:DI:II 27:63:10, fue muy semejante al encontrado en sujetos sanos y con DM tipo 2 de procedencia mediterránea^(10,20) aunque no coincidente con el detectado en otros grupos de población caucásica como la americana, DD:DI:II 21:47: 32⁽⁸⁾; u otras etnias como la asiática, DD:DI:II 14:40:46^(9,21). Esto apoyaría la hipótesis de la gran variabilidad de la distribución alélica de este polimorfismo que se puede encontrar entre diferentes etnias o poblaciones dentro de un mismo grupo étnico.

La falta de asociación entre albuminuria y polimorfismo de la ECA coinciden con los resultados encontrados en población mediterránea⁽¹²⁾ y en población japonesa⁽⁹⁾ pero discordantes en otros⁽²¹⁻²³⁾. Esta discordancia se puede deber en parte a la distinta variabilidad en la frecuencia genotípica que se ha encontrado entre distintas poblaciones, así la mayoría de los estudios realizados en población asiática no encontraron asociación entre el polimorfismo de la ECA y aumento de EAU⁽²¹⁻²³⁾, en estos grupos la prevalencia del alelo D es significativamente menor que en poblaciones de procedencia no asiática. Es probable que en esta población el polimorfismo de la ECA y a través de la regulación del SRA desempeñe un papel fisiopatológico en la aparición de la nefropatía diabética y que estas diferencias en la asociación entre polimorfismo de la ECA y nefropatía diabética entre distintas etnias pudiera explicar en parte la mayor

prevalencia de afectación renal en los diabéticos tipo 2 de origen asiático⁽²⁴⁾.

Los criterios empleados en la definición de nefropatía diabética en los estudios también fueron diferentes; así en algunos estudios incluyen pacientes con microalbuminuria y macroalbuminuria, otros sólo con macroalbuminuria, mientras que en nuestro estudio mayoritariamente, 26 de 32 sujetos tenían microalbuminuria, aunque en un estudio que comparó genotipaje D/I entre sujetos con micro y macroalbuminuria no encontró ninguna diferencia⁽²²⁾. Los errores en el genotipaje también podrían explicar en parte las diferencias encontradas en los mismos⁽²⁵⁾.

En la actualidad se sostiene que el polimorfismo de la ECA tiene más importancia en la identificación de los sujetos resistentes a los efectos de los inhibidores de la ECA y por tanto en la progresión de la progresión de la nefropatía diabética que en la aparición de la misma⁽²⁶⁾.

En conclusión en nuestro estudio en población con DM tipo 2 no encontramos asociación entre polimorfismo de la ECA y excreción de albuminuria en orina.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio ha sido financiado y soportado en parte por los Laboratorios Novo-Nordisk.

BIBLIOGRAFÍA

- Yudkin JS. How can we best prolong life? Benefits of coronary risk factor reduction in non-diabetic and diabetic subjects. *Br Med J* 1993;**306**:1313-1318.
- Cambien F, Poirier O, Lecerf L, Evans A, Cambou JP, Arvelier D et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992;**359**:641-644.
- Ruiz J, Bianché H, Cohen N, Velho G, Cambien F, Cohen D et al. Insertion/deletion polymorphism in angiotensin-converting enzyme gene is strongly associated with coronary heart disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; **91**:3662-3665.
- Keavney BD, Dudley CRK, Stratton IM, Holman RR, Matthews Dr, Ratcliffe PJ et al. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) 14: association of angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism with myocardial infarction in NIDDM. *Diabetologia* 1995; **38**:948-952.
- Agerholm-Larsen B, Nordestgaard BG, Steffensen R, Sorensen TLA, Jensen G, Tybjaerg-Hansen A. ACE Gene polymorphism: Ischemic Heart Disease and Longevity in 10150 individuals. A Case-referent and retrospective Cohort Study based on the Copenhagen city heart study. *Circulation* 1997;**95**:2358-2367.
- Cambien F. The angiotensin-converting enzyme (ACE) genetic polymorphism: its relationship with plasma ACE level and myocardial infarction. *Clin Genet* 1994;**46**:94-101.
- Gall MA, Borch-Jensen K, Hougaard P, Nielsen F, Parving H-H. Albuminuria and poor glycemic control predict mortality in NIDDM. *Diabetes* 1995;**44**:1303-1309.
- Jeffers BW, Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in non-insulin dependent diabetes mellitus and its relationship with diabetic nephropathy. *Kidney International* 1997;**52**:473-477.
- Nakajima S, Baba T, Yajima Y. Is ACE gene polymorphism a useful marker for diabetic albuminuria in Japanese NIDDM patients? *Diabetes Care* 1996;**12**:1420-1422.
- Rovira E, Chaves FJ, Julve R, Pascual JM, Miralles A, Armengod ME et al. Polimorfismo inserción/delección del gen codificador de la enzima conversiva de la angiotensina y microalbuminuria en la hipertensión arterial esencial. *Med Clin (Barc)* 1999;**19**:726-730.
- Thomas GN, Critchley JA, Tomlinson B, Lee ZS, Young RP, Cockran CS et al. Albuminuria and the renin-angiotensin system gene polymorphisms in type-2-diabetic and in normoglycemic hypertensive Chinese. *Clin Nephrol* 2001;**55**:7-15.
- Gutiérrez C, Vendrell J, Pastor R, Llor C, Aguilar C, Broch M et al. Angiotensin I-converting Enzyme and Angiotensinogen Gene Polymorphism in Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. Lack of relationship with diabetic nephropathy and retinopathy in Caucasian mediterranean population. *Metabolism* 1997;**46**:976-980.
- Kawasaki E. Sample preparation from blood cell and other fluids. En: Innis M, Gelfand D, Sninsky J, White T (eds). *PCR protocols: a guide to methods and applications*. San Diego: Academic Press, 1990; 48-76.
- Rigat B, Hubert C, Corvo P, Soubrier F PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP1) (dipeptidyl carboxypeptidase). *Nucleic Acids Res* 1992;**20**:1433.
- Fogarty DG, Maxwell AP, Doherty CC, Hughes AE, Nevin NC. ACE gene typing. *Lancet* 1994;**343**:851.
- Wannamethee SG, Shaper AG y Whincup PH. Serum urate and the risk of major coronary heart disease events. *Heart* 1997;**78**:147-153.
- Facchini F, Chen DI, Hollenbeck CB, Reaven GM. Relationship between resistance to insulin-mediated glucose uptake, urinary uric acid clearance, and plasma uric acid concentration. *JAMA* 1991;**266**:3008-3011.
- Niskanen L, Laakso M. Insulin resistance is

- related to albuminuria in patients with type II (non-insulin-dependent) Diabetes Mellitus. *Metabolism* 1993;**42**:1541-1545.
19. Deckert T, Feld-Rasmussen BF, Borch-Johnsen K, Jensen T, Kofoed-Enevoldsen A. Albuminuria reflects widespread vascular damage. The Steno hypothesis. *Diabetologia* 1989;**32**:219-226.
20. Andreu EP, Palmero CP, Lozano RG, García-Junco PS, Miranda Guisado ML et al. Influencia de los polimorfismos M235T del angiotensinógeno e I/D de la enzima conversiva de la angiotensina sobre la hipertensión arterial y otros factores de riesgo cardiovascular. *Med Clin (Barc)* 1999;**113**:164-168.
21. Doi Y, Yoshizumi H, Yoshinari M, Lino K, Yamamoto M, Ichikawa K et al. Association between a polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene and microvascular complications in Japanese patients with NIDDM. *Diabetologia* 1996;**39**:97-102.
22. Ohno T, Kawazu S, Tomono S. Association analyses of the polymorphism of angiotensinogen genes with diabetic nephropathy in Japanese non-insulin-dependent diabetics. *Metabolism* 1996;**2**:218-222.
23. Mizuiri S, Hemmi H, Inoue A, Yoshikawa H, Tanegashima M, Fushimi T et al. Angiotensin-converting enzyme polymorphism and development of diabetic nephropathy in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Nephron* 1995;**70**:455-459.
24. Tierney MW, McDonald CJ, Luft FC. Renal disease in hypertensive adults: effect of ACE inhibitors. *Am J Kidney Dis* 1989;**13**:485-493.
25. Shanmugan V, Shell KW, Saha BK. Mistyping ACE heterozygotes. *PCR Meth Appl* 1993;**3**:120-121.
26. Kennon B, Petrie JR, Small M, Connell JM. Angiotensin-converting enzyme gene and diabetes mellitus. *Diabet Med* 1999;**16**:448-458.

FE DE ERRATAS

En el artículo de revisión: **Recomendaciones de la Sociedad Española de Diabetes sobre la evaluación del riesgo de diabetes mellitus tipo 1**, publicado en *Avances en Diabetología* 2000;**17**:77-79, debido a un error tipográfico, se omitió en la relación de autores que han participado en la elaboración de las recomendaciones al **Dr. L. Castaño** y aparece incorrecto el nombre del **Dr. R. Bilbao**.

**VI CONGRESO CUBANO DE DIABETES
II SIMPOSIO CUBANO “INMUNOLOGIA DE LA DIABETES”**

La Habana, Cuba (Hotel Neptuno-Tritón)
31 de octubre-2 de Noviembre de 2002

El objetivo fundamental de este evento será el intercambio de experiencias y resultados científicos, así como la actualización de la esfera de la diabetes mellitus, como plataforma para la evaluación de las ya existentes líneas de investigación y el establecimiento de nuevas. El congreso incluye conferencias magistrales, presentación de trabajos de los asistentes en forma de carteles, mesas redondas, debates y sesiones espontáneas de grupos de expositores. Conjuntamente se celebrará el II Simposio Cubano sobre Inmunología de la Diabetes.

IDIOMA DE TRABAJO: Español

CUOTAS DE INSCRIPCIÓN

Delegados nacionales: \$ 150 MN
Delegados nacionales: \$ 160 MN

El pago de la inscripción se realizará en el Consejo de Sociedades Científicas. Las agencias de viajes representantes de CUBANACAN en el extranjero ofrecen cuotas de inscripción promocionales. Para más información, contactar a : Sr. Eduardo González Valdés. Departamento comercial. E-mail: comercial@nep-tri.gca.cma.net Tel. 537 241606. Fax: 537 240042.

CORRESPONDENCIA

DR. ROLANDO SUÁREZ PÉREZ
Presidente del Comité Científico
Instituto Nacional de Endocrinología
Zapata y D, Vedado, Ciudad de la Habana. 10400 Cuba
Tel: 537 327275, Fax: 537 333417
E-mail: diabetes@infomed.sld.cu
inen@infomed.sld.cu



SOLICITUD DE INSCRIPCIÓN

Nombre: *Apellidos:*

Profesión: *Especialidad:*

Dirección: *Ciudad/País:*

Tel: *Fax:* *E-mail:*

Presentación de trabajo en carteles: SÍ NO

Boletín de suscripción

Dirección de envío Nombre y Apellidos _____

 Dirección _____

 Teléfono _____ Población _____

 D.P. _____ Provincia _____ NIF _____

Canarias

Suscribame a:

<input type="checkbox"/> Avances en Diabetología (4 números/año)	25,24 €	29,44 €
	4.200 Ptas.	4.900 Ptas.

Impuestos y gastos de envío incluidos.

✂

- Mediante talón nº que adjunto A través de mi cuenta bancaria (cumplimento autorización adjunta)

Orden de pago por domiciliación bancaria

Banco/Caja de Ahorros _____ Entidad _____ Nº Sucursal _____ D.C. _____

Calle _____ Población _____

D.P. _____ Provincia _____ C/C o Ahorro nº _____

Nombre del titular de la cuenta _____

Ruego a Vds. se sirvan tomar nota de que, hasta nuevo aviso, deberán adeudar en mi cuenta corriente con esa entidad el recibo o letra que anualmente y a mi nombre les sean presentados para su cobro por
Ergon Creación, S.A..

Les saluda atentamente
(Firma)

Remitir a:
ERGON CREACIÓN, S.A.

C/ Arboleda, 1
28220 MAJADAHONDA (Madrid)
Teléfono suscripciones: (91) 636 29 37 , de de 2002

Oferta válida hasta el 31 de Diciembre de 2002