

El Equilibrio Redox en la Diabetes y sus Complicaciones

Saed Mohamed AL-DALLEN¹, Taimy CHÁVEZ RODRÍGUEZ¹, Gregorio MARTÍNEZ SÁNCHEZ¹,
Edilene FERREIRA BEGA² & Olga Sonia LEÓN FERNÁNDEZ^{1*}

¹ Centro de Estudios para las Investigaciones y Evaluaciones Biológicas.
Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana. San Lázaro y L,
Ciudad de La Habana 4, Cuba.

² Universidad Paranense- UNIPAR, Brasil.

RESUMEN. Se recogen evidencias recientes indicativas del incremento del daño oxidativo en la Diabetes Mellitus tipo 1 y 2, así como de deficiencias de los mecanismos antioxidantes de defensa. Todas las formas de diabetes se caracterizan por una hiperglicemia crónica y el desarrollo de enfermedades microvasculares que causan ceguera, fallo renal y daño en los nervios; en la diabetes acelerada con aterosclerosis se incrementa el riesgo de infarto del miocardio, isquemia cerebral y amputaciones de miembros inferiores. El estrés oxidativo está implicado en la patogénesis de las complicaciones diabéticas. Cuatro mecanismos fundamentales están relacionados con los daños vasculares producto de la hiperglicemia inducida por la sobreproducción del anión superóxido por la cadena de transporte electrónico mitocondrial. Las investigaciones apuntan a que el estado redox celular pudiera estar jugando un papel central en la diabetes y el síndrome metabólico asociado.

SUMMARY. "The Redox Balance in Diabetic and its Complications". Recent evidence is reviewed indicating increased oxidative damage in type 1 and type 2 diabetes mellitus as well as deficits in antioxidant defense system. All forms of diabetes are characterized by chronic hyperglycaemia and the development of the diabetes-specific microvascular disease is a leading cause of blindness, renal failure and nerve damage; diabetes-accelerated atherosclerosis leads to increased risk of myocardial infarction, stroke and limb amputation. The oxidative stress has been implicated in pathogenesis of diabetic complications. Four main molecular mechanisms have been implicated in glucose-mediated vascular damage. All of them seem to reflect a single hyperglycaemia-induced process of overproduction of superoxide by the mitochondrial electron-transport chain. It is argued that cellular redox status should now be regarded as central player in diabetes and the metabolic syndrome.

DIABETES MELLITUS

Diabetes significa "pasar a través de" y *mellitus* "azúcar". En la actualidad la Diabetes Mellitus (DM) no se considera una enfermedad en el sentido clásico, puesto que carece de una patogenia claramente definida, así como de una etiología, de hallazgos clínicos invariables y de hallazgos de laboratorio específicos. Además no presenta un tratamiento curativo o definitivo, por lo tanto debe considerarse un síndrome, una entidad clínica que puede mostrar una amplia variedad de síntomas y de resultados experimentales, con una respuesta variable al tratamiento¹⁻².

La DM es una afección metabólica crónica debida a un defecto, absoluto o relativo, de la producción y/o liberación de insulina efectiva

que conduce a una alteración en el metabolismo de los carbohidratos, proteínas y lípidos, lo cual se traduce en un aumento de las concentraciones de glucosa en sangre y orina, así como de la concentración de lípidos en sangre.

La hiperglicemia persistente desencadena las alteraciones orgánicas más precoces de la DM, las angiopatías diabéticas: micro y/o macro vasculares que en ocasiones determinan el cuadro clínico y son responsables directas de las complicaciones crónicas, y a menudo letales e invalidantes, que suelen presentar estos pacientes. Entre éstas se destacan las alteraciones progresivas de los capilares renales y de la retina, las lesiones de los nervios periféricos y la aterosclerosis acelerada, al nivel de las arterias cerebrales, coronarias y de los miembros inferiores³.

PALABRAS CLAVE: Anión Superóxido, Diabetes Mellitus, Estrés Oxidativo, Hiperglicemia.

KEY WORDS: Diabetes Mellitus, Hiperglicemic, Oxidative Stress, Superoxide Anion.

* Autora a quien dirigir la correspondencia. E-mail: olga@infomed.sld.cu

El estado sindrómico de la DM responde a un fondo genético individual e interacciona con factores ambientales. Se trata de un síndrome metabólico-endocrino heterogéneo en el que los factores genéticos desempeñan una función esencial conjuntamente con la acción de agentes virales, inmunológicos y ambientales.

CLASIFICACIÓN DE LA DIABETES MELLITUS

En 2000 la Asociación Americana de Diabetes y la Organización Mundial de la Salud (OMS) adoptaron una nueva clasificación de la DM ⁴:

Primaria: 1) DM insulino-dependiente (DMID), tipo 1; 2) DM no insulino-dependiente (DMNID), tipo 2; que se subdivide en: a) DMNID no asociada a la obesidad, b) DMNID asociada a la obesidad, c) Diabetes tipo MODY (Diabetes del Adulto de Aparición Juvenil).

Secundaria: 1) Asociada a alteraciones endocrinas como: acromegalia, enfermedad de Cushing, síndrome de Cushing e hipertiroidismo; 2) Asociadas a enfermedades pancreáticas (pancreatitis); 3) Hiperglicemia tóxica o inducida por fármacos: óxido de carbono, éter, morfina, acidosis, cafeína, salicilatos, tiazidas; 4) Por anomalías en el receptor de la insulina; 5) Síndromes genéticos; 6) Diabetes gestacional: Intolerancia a la glucosa durante el embarazo; 7) Asociadas a otras patologías: Insuficiencia hepática, hiperglicemia encefalopática.

DIABETES MELLITUS TIPO 1

Características clínicas

Desde el punto de vista clínico se caracteriza por un comienzo temprano, por regla general antes de los 30 años de edad, de manera rápida en individuos sin sobrepeso, con cetosis presente y necesidad de insulina, no sólo por el adecuado control de la glucemia sino, y es lo más importante, para la prevención del desarrollo de la cetosis.

Patogenia

Desde el punto de vista patogénico existen hechos objetivos y una patogenia especulativa. Entre los primeros cabe destacar su componente genético, su asociación con fenómenos autoinmunes y la presencia de insulinoopenia severa con una acción periférica de la insulina normal.

Fenómenos autoinmune

Como se había planteado anteriormente, hay existencia de predisposición genética y factores ambientales: ambos influyen en la respuesta autoinmune. El tipo de respuesta inmune es dependiente de la subpoblación de células Th (Th1 o Th2) que se active; esta activación va a

depender del patrón de citocinas liberadas durante la fase inicial de la respuesta inmunológica, en la cual IL-12 y IL-4 juegan un papel decisivo ⁵. Las citocinas producidas por cada una de las subpoblaciones de células Th tienen efectos inhibitorios sobre la subpoblación opuesta y este proceso dirige las células CD4+ hacia el fenotipo Th1 o Th2. La inducción de células Th1 o Th2 tiene profundas consecuencias inmunológicas, patogénicas o protectoras, de acuerdo a las circunstancias particulares ⁶. Los efectos protectores están mediados por leucocitos de la subpoblación Th2 que producen interleukina 4 (IL-4) e interleukina 10 (IL-10) mientras la respuesta inmune patogénica, que provoca la destrucción de las células β de los islotes en la DM tipo 1, está mediada por células T autoreactivas a los antígenos de las células β . Se plantea la hipótesis de que las células T autoreactivas son subpoblaciones Th1 productoras de citocinas, IL-2, IFN α y TNF β . De acuerdo a estos conceptos las citocinas liberadas por las células Th1 activan macrófagos y células T citotóxicas mientras que las citocinas liberadas por las células Th2 (IL-4 e IL-10) disminuyen las acciones lesivas de Th1. Las células Th1 y las citocinas liberadas por estas están involucradas en la patogénesis de la DM tipo 1.

Los islotes no están atrofiados de forma uniforme, observándose una insulitis mayor en aquellos con menos atrofia, lo que sugiere que ésta es la consecuencia de la insulitis. Las células β en los islotes con insulitis expresan moléculas de clase II en su superficie, con lo que se transforman en autopresentadoras de antígenos, también muestran hiperexpresión de moléculas de clase I, hecho que asimismo se observa en las células α , δ productoras de polipéptido pancreático.

En los eventos autoinmunes que provocan la destrucción de las células β pancreáticas están involucradas ciertas proteínas de las células β que actúan como autoantígenos, los cuales son procesados por las células presentadoras de antígenos (CPA). Ha sido propuesto que los macrófagos pancreáticos activados o las células dendríticas pueden secretar diferentes citocinas con efectos opuestos (Ej. IL-12 e IL10). Si predomina IL-12 las células Th1 son fuertemente inducidas. Las células Th1 y posiblemente también las células NK (Natural Killer) producen altas concentraciones de IFN- γ , el cual amplifica el desarrollo de las células Th1, inducidas por IL-12. El IFN- γ activa macrófagos para ejercer una actividad citotóxica y secretar citocinas potencialmente tóxicas para las células β , tales como IL1 β o TNF α , así como también especies reactivas del oxígeno (ERO). El IFN- γ y la IL-2 es

timulan células T citotóxicas CD8+ las que pueden destruir las células β y secretar TNF β y también IFN- γ . Estos mecanismos efectores conllevan a la destrucción de las células β y a la liberación subsiguiente de antígenos procedentes de las células β , que pueden ser presentados por APC pancreáticas a células T específicas, desencadenándose así los mecanismos de auto-inmunidad asociados a la insulinitis destructiva ⁷.

Autoanticuerpos

Se ha descrito la presencia de autoanticuerpos contra determinados antígenos del islote. A continuación se citan los más importantes: 1) Anticuerpos contra las células de los islotes (ICA), que son inmunoglobulinas (IgG) dirigidas contra una variedad de antígenos tanto de las células β como de las otras presentes en el islote. Algunos de estos ICA se dirigen contra antígenos de superficie exclusivos de las células β y se denominan ICSA. Los antígenos reconocidos por los ICA más destacables son un glucoconjugado y la descarboxilasa del ácido glutámico (GAD), que preceden en muchos años a la aparición clínica de la Diabetes, cuya duración varía en dependencia de que el paciente presente o no autoinmunidad organoespecífica múltiple. Se encuentran aproximadamente en el 75% de los pacientes en el momento del diagnóstico y su valor predictivo depende de su titulación que se mide en unidades JDF (Juvenile Diabetes Foundation). 2) Anticuerpo anti-insulina (IAA): dado que la insulina es una proteína específica de las células (podría ser el antígeno desencadenante de la respuesta autoinmune. Los IAA son más frecuentes en los niños que en los adultos y son muy precoces en su aparición. Se presentan aproximadamente en el 50% de los pacientes en el momento del diagnóstico. 3) Anticuerpos antidescarboxilasa del ácido glutámico (GADA): al principio se describieron como antiproteínas 64 kDa, son bastante precoces y duraderos y en el momento del diagnóstico se hallan en un 70% de los pacientes aproximadamente. 4) Anticuerpos antiproteínas 37 kDa: cuando se fragmenta el GADA con tripsina aparecen dos fragmentos de 37 y 40 kDa. Los anticuerpos contra la primera fracción tienen un gran interés por su alto valor predictivo. 5) Anticuerpos contra la tirosina fosfatasa (IA2 o ICA512): son los anticuerpos dirigidos contra el fragmento 40 kDa de la digestión del GAD. 6-) Otros autoantígenos: Entre ellos cabe destacar la carboxipeptidasa, proteínas 69 kDa que tienen determinantes antigénicos compartidos con la albúmina sérica bovina,

hecho que podría estar relacionado con el efecto protector de la lactancia materna en el ulterior desarrollo de la DM tipo 1 ⁸.

Los anticuerpos referidos con anterioridad y otros, no sólo interesan porque evidencian un mecanismo patogénico autoinmune, sino que dada su aparición antes del desarrollo de la enfermedad son marcadores de riesgo de su futuro desarrollo ⁹.

Componente genético

Los familiares directos de un paciente con DM tipo 1 tienen una probabilidad en torno al 5-10% de desarrollar ese tipo de Diabetes y en gemelos homocigóticos del 30-50%, de lo cual se deduce la importancia del componente genético pero no de su influencia decisiva por lo que se necesita la participación de agentes exógenos.

La DM tipo 1 se asocia esencialmente con los genes que regulan el sistema HLA (antígenos para leucocitos humanos). Inicialmente se describió asociación con los antígenos de la clase I (B8 y B15) y después con los de la clase II (DR3 y DR4), observándose mayor asociación con estos últimos, estando los primeros unidos a los últimos por un desequilibrio de ligazón. Se han descrito alteración en los antígenos, expresión de estos genes como la ausencia de ácido aspártico en el residuo 57 de la cadena β y mayor todavía con la presencia de lisina en el residuo 71 de la cadena β ¹⁰⁻¹².

Se han descrito también asociaciones con otros genes, aunque menos constantes, como la región hipervariable del gen de la insulina, polimorfismo de la región constante de la cadena β del receptor del linfocito T, genes que regulan la producción de IL, TNF α , proteínas del procesamiento y transporte del antígeno en el macrófago, respectivamente, y genes implicados en la defensa celular frente al estrés oxidativo ¹³⁻¹⁶.

DIABETES MELLITUS TIPO 2

Características clínicas

La DM tipo 2 se caracteriza por su inicio tardío, por regla general después de los 40 años, de manera lenta o insidiosa en individuos generalmente obesos, sin cetosis. La insulina será necesaria o no para el buen control de la glicemia, pero no para la prevención de la cetosis.

Patogenia

Patogénicamente existen una serie de hechos objetivos: insulino resistencia, alteraciones de la insulino secreción y un fuerte componente genético, pero su etiopatogenia aún sigue sin esclarecerse en la mayoría de los casos ¹⁷.

Alteraciones genéticas

El componente genético de la DM tipo 2 es de gran importancia como lo demuestra el hecho de que en gemelos homocigóticos la probabilidad de que uno desarrolle DM tipo 2, cuando la ha desarrollado el otro, es de un 90%¹⁸.

Se han descrito alteraciones de diversos genes que dan lugar a un desarrollo clínico compatible con DM tipo 2 entre los que cabe citar anomalías moleculares de la insulina, las diversas modalidades de MODY, localizadas en el cromosoma 20 (MODY₁), cromosoma 7 (MODY₂) y cromosoma 12 (MODY₃), así como la alteración de la glucógeno sintetasa muscular⁴.

Sin embargo, en la mayoría de los casos la alteración específica no es conocida y no es compatible con herencias monogénicas, sino posiblemente poligénica y multifactorial en la que pueden estar involucrados diversos genes candidatos, junto con factores exógenos como la alimentación excesiva y la falta de ejercicios físicos.

Puede existir una vía intermedia en poblaciones de elevada prevalencia. Se ha descrito una distribución bimodal de la glicemia, lo cual sugiere una alteración monogenética. Sin embargo, un estudio genético familiar no se ajusta a este patrón, pudiera tratarse de un defecto genético mayor y varios contribuyentes menores asociados. Como genes candidatos se especula entre otros los que codifican para el transportador GLUT4, glucógeno sintetasa y hexoquinasas entre los relacionados con el metabolismo periférico de la glucosa; fosfoenolpiruvato carboxiquinasa y la glucosa 6 fosfatasa, entre los relacionados con la producción hepática de glucosa y el transportador GLUT2¹⁹.

Insulino resistencia

Muchos estudios transversales y longitudinales en individuos sanos, familiares o no de pacientes con DM tipo 2, y en pacientes con tolerancia a la glucosa disminuida han demostrado que la insulino-resistencia precede a la aparición de la DM tipo 2, a la tolerancia anormal a la glucosa, y a la insulino-resistencia que, por regla general, es mixta pero sobretodo obedece a un mecanismo post-receptor²⁰⁻²².

Los mecanismos moleculares implicados en la insulino-resistencia son muy variados. La elevación de las concentraciones de insulina circulante disminuyen el número, y en menor medida, la afinidad de los receptores por un fenómeno de *down-regulation*. Del mismo modo la hiperglicemia disminuye los transportadores de glucosa, lo que es conocido como efecto tóxico periférico de la glucosa²³. Solo en muy raros

casos una alteración molecular de la insulina o de los transportadores de glucosa es el hecho patogénico primario. En relación con el metabolismo periférico de la glucosa son múltiples las alteraciones fisiopatológicas descritas. Entre las más frecuentes cabe destacar la alteración de la glucógeno sintetasa muscular. La mayor disponibilidad de ácidos grasos condiciona un aumento de la gluconeogénesis y en menor medida una disminución de la captación periférica de la glucosa (ciclo de Randle). Asimismo, en los pacientes con DM tipo 2 hay una menor proporción de fibras musculares tipo I de contracción lenta y mecanismo aeróbico. El predominio de las fibras IIb, de carácter anaeróbico, es seguida de una disminución de capilares musculares y en consecuencia de un menor aporte tisular tanto de glucosa como de insulina²⁴.

Defecto de la insulinosécración

La hiperinsulinemia basal y post-sobrecarga, observada en algunos pacientes, es más aparente que real. Alteraciones cualitativas de la insulinosécración se observan ya en familiares sanos de los pacientes. Parece que es necesario una alteración del funcionamiento de las células β , ya que en individuos obesos con insulino-resistencia, al menos igual a la observada en pacientes con DM tipo 2, no desarrollan la enfermedad gracias a la hipersecreción conservadora y mantenida de insulina. Pero no se conocen los mecanismos esenciales.

La patogenia de la DM tipo 2, aunque diferente de unos individuos a otros, parece indicar un deterioro progresivo de las células β , que se agrava con el empeoramiento del control glicérico²⁵⁻²⁷.

LA HIPERGLICEMIA Y SUS COMPLICACIONES

Complicaciones vasculares y neurológicas

Entre las complicaciones asociadas a la diabetes podemos citar: 1) La *microangiopatía*, asociada con un engrosamiento de la membrana basal capilar por glucosilación de las proteínas, que ocurre fundamentalmente en la retina y el riñón. Se caracteriza por afecciones en los pequeños vasos (capilares y arteriolas)¹⁵. 2) La *macroangiopatía*, constituida por: a) enfermedades de la pared arterial²⁹ y b) anomalías de las propiedades hemostáticas de la sangre³⁰. Estos últimos dos aspectos están relacionados con la aterosclerosis, que en diabéticos es mucho más frecuente por la elevada adhesividad y agregabilidad plaquetaria que ellos presentan por la hiperglicemia y por ser la insulina la encargada de estimular la proliferación de células musculares lisas e incrementar la captación y

síntesis local de lípidos ³¹. La aterosclerosis conduce a enfermedades isquémicas cardiovasculares, vasculares periféricas, y cerebro vasculares ³². 3) La *neuropatía diabética*, un estado clínico que se caracteriza por disfunción o alteración motora del sistema nervioso, central o periférico, que aparece en estadios tardíos de la diabetes asociados generalmente con la micro y macroangiopatía diabética ³³.

La etiología y patogenia de la neuropatía diabética es multifactorial, aunque las más importantes son la vascular y la metabólica. Ambas teorías suponen que la hiperglicemia condiciona la aparición de neuropatía ²⁸. Como consecuencia, todas estas alteraciones ocasionarán modificaciones estructurales y funcionales en las extremidades inferiores, fundamentalmente en el pie ³⁴.

La neuropatía diabética periférica, las enfermedades vasculares periféricas y la disminución de la resistencia a las infecciones en estos pacientes, favorecen el desarrollo del Pie Diabético ³⁵. El Pie Diabético se define como una alteración clínica de base etiopatogénica neuropática e inducida por la hiperglicemia mantenida en la que, con o sin coexistencia de isquemia y previo desencadenante traumático, se produce lesión y/o ulceración en el pie, siendo ésta la primera causa de ingreso hospitalario del paciente diabético y poniendo en riesgo la viabilidad de las extremidades ³⁴.

El estrés oxidativo en la diabetes y sus complicaciones

Hay un flujo continuo de nuevos resultados de investigaciones que evidencian que las ERO hacen una contribución significativa a la progresión de la diabetes y sus complicaciones. El término estrés oxidativo se refiere a la situación en que se produce un desbalance entre la producción de ERO y las defensas antioxidantes, a favor de la generación de especies oxidadas, conllevando a un daño potencial del tejido ^{36,37}.

La mayoría de las biomoléculas esenciales (lípidos, proteínas y ácidos nucleicos) constituyen dianas de las ERO, generadas durante la hiperglicemia. La Peroxidación Lipídica (POL) es particularmente importante, ya que ésta contribuye significativamente al desarrollo de la aterosclerosis ³⁸.

Las proteínas modificadas (incluyendo proteínas carbonílicas), y restos de aminoácidos modificados (incluyendo carboximetil y carboxetil lisina), son también el resultado del ataque de las ERO sobre las proteínas ³⁹. El incremento en el número de grupos carbonilos en proteínas ha sido referido en el humor vítreo de pacientes diabéticos ⁴⁰. La N-ε-carboximetil lisina se acumula

en las paredes arteriales, así como también en el suero de sujetos diabéticos, donde la producción de estos mediadores oxidados puede ser atenuada por la superóxido dismutasa (SOD), lipoato, catalasa (CAT), vitamina E y deferoxamina ⁴¹. Por otra parte, la actividad de las enzimas antioxidantes: SOD, glutatión peroxidasa (GPx) y CAT pueden ser inhibidas por glicación, inactivándose las defensas antioxidantes endógenas ⁴².

El daño a proteínas afecta las funciones de receptores, enzimas, proteínas transportadoras y otras biomoléculas, incluyendo no sólo enzimas del sistema de defensa antioxidantes sino también a enzimas reparadoras ⁴³.

La interrelación estrecha entre la hiperglicemia, sus complicaciones, y el estrés oxidativo es demostrada por la determinación de la capacidad total de captura de radicales en sujetos control y pacientes diabéticos; en estos últimos se apreció una disminución significativa de estos indicadores ⁴⁴. Sin embargo, los mecanismos involucrados no son aún conocidos en detalle. En particular, para el desarrollo de las complicaciones vasculares, se han referido cuatro vías que contribuyen al estrés oxidativo: la Vía del Polirol, la Autoxidación de la Glucosa, la Glicación de Proteínas y las interacciones entre los Productos Terminales de la Glicosilación Avanzada (PTGA) con sus receptores. Las alteraciones metabólicas, asociadas a la hiperglicemia, también muestran una fuerte relación con el estrés oxidativo.

La diabetes tipo 2, que afecta al 90% de todos los pacientes, diabéticos está caracterizada por la pérdida de la capacidad del tejido, sensible a la insulina, de responder a la hormona. Como una consecuencia la gluconeogénesis en el hígado es acelerada, mientras que el consumo y conversión de la glucosa, por los tejidos sensibles a la insulina, tales como el músculo y el tejido graso, son severamente deteriorados. En compensación se incrementa la liberación de insulina, por las células β, resultando en una característica típica de la diabetes tipo 2: altos niveles de glucosa plasmática en presencia de hiperinsulinemia ⁴⁴.

Se ha sugerido que los antioxidantes ejercen una influencia sobre las vías de señalización, mediadas por la insulina y el consumo de glucosa ⁴⁵. El agotamiento de antioxidantes, acompañado por una disminución en el consumo de glucosa, ha sido detectado en pacientes diabéticos tipo 2. El hallazgo de un estudio prospectivo de 4 años llevó a la hipótesis de que el desbalance entre ERO y los antioxidantes es un factor patogénico importante que conduce a la resistencia a la insulina debido a una estimulación deficiente de las vías de señalización, mediadas

por ésta. Esta hipótesis está fundamentada por observaciones clínicas que muestran una estrecha asociación entre el estrés oxidativo y la sensibilidad a la hormona ⁴⁶.

El ácido lipoico, un conocido antioxidante, ha sido capaz de mejorar la utilización de la glucosa en modelos experimentales *in vitro* e *in vivo*. Las acciones beneficiosas del ácido lipoico se han observado en la translocación del transportador GLUT₄ desde el compartimiento intracelular a la superficie celular, a través de la activación del Sustrato 1 del Receptor de la Insulina (IRS-1) y de la Fosfatidil Inositol 3-quinasa (PI3-quinasa) ⁴⁷. Se ha observado un incremento, inducido por el ácido lipoico, en el metabolismo no oxidativo (incorporación de glucosa al glucógeno) y oxidativo (oxidación de la glucosa). Ha sido demostrado, de igual forma, una disminución en las concentraciones de glucosa, piruvato y lactato en presencia del ácido lipoico ⁴⁸.

La hiperglicemia disminuye la producción de factores tróficos para las células endoteliales y neuronales que conlleva a edema e isquemia entre otros eventos lesivos, conduciendo a un metabolismo anaeróbico. Se ha demostrado *in vitro* que los nervios de ratas diabéticas poseen una producción de lactato más alta, durante el reposo. Durante la exposición a la anoxia el lactato se incrementa de forma adicional, comparado con nervios de ratas no diabéticas ⁴⁹.

La velocidad de glucólisis anaerobia es alta al inicio, pero luego comienza a disminuir debido a que la acidosis es un evento secundario a la acumulación de lactato (Fig. 1) y al hecho de que algunos productos de la glucólisis se acumulan en el tejido (sobrecarga osmótica), y este fenómeno es responsable de la inhibición de la glucólisis anaeróbica. Al mismo tiempo, la glucólisis anaeróbica, con la consiguiente degradación del glucógeno, constituye una fuente generadora de ERO (Fig. 2).

Mecanismos bioquímicos y moleculares de las complicaciones en la Diabetes Mellitus

Un interrogante formulado por diferentes autores, y aún no totalmente esclarecido en la actualidad, es el siguiente: ¿cómo la diversidad de eventos asociados a las complicaciones microangiopáticas y macroangiopáticas son el resultado de la hiperglicemia?. Una gran cantidad de datos experimentales, así como también de algunos ensayos clínicos basados en inhibidores específicos de 4 mecanismos bioquímicos, han permitido arribar a 4 hipótesis fundamentales que se relacionan e interconectan entre sí ²⁷: 1) Incremento en la Vía del Poliol; 2) Aumento en

la formación de PTGA; 3) Activación de isoformas de la proteína quinasa C (PKC), y 4) Incremento en la Vía de las Hexosaminas.

La Vía del Poliol

Es una ruta de gran trascendencia en las complicaciones diabéticas. El metabolismo de la glucosa por esta vía consta de dos reacciones, donde la glucosa se reduce a sorbitol, reacción catalizada por la Aldosa Reductasa (AR), enzima que marca el paso de la velocidad limitante de la ruta y que constituye uno de las dianas terapéuticas más intensamente investigadas en la actualidad, en la búsqueda de nuevos fármacos para el tratamiento de las complicaciones diabéticas ⁵⁰⁻⁵². Posteriormente, el sorbitol se transforma en fructosa con la participación de la sorbitol deshidrogenasa (SD), produciéndose en este proceso el consumo de NADPH y NAD⁺. Normalmente el metabolismo de la glucosa por esta ruta es bajo, pero cuando hay hiperglicemia las concentraciones de glucosa intracelular, en las células que no requieren de insulina para captar glucosa, aumentan y se ve favorecida esta ruta. El incremento de la concentración intracelular de sorbitol trae varias consecuencias: a) se puede producir un aumento de la captación de agua por las células debido a la capacidad osmótica del sorbitol, generándose un edema que puede causar isquemia y daño neurológico; b) el sorbitol actúa como un inhibidor competitivo del mioinositol, por lo que se produciría una disminución de este último, con la consiguiente disminución de la actividad de la ATPasa Na⁺/K⁺ y activación de la PKC; se produce aumento de la actividad de la fosfolipasa A₂ citosólica y el aumento de la producción de prostaglandinas vasodilatadoras, lo que llevaría a un enlentecimiento de la velocidad de conducción y desmielinización progresiva por edema paranodal y disyunción axoglional; c) por la disminución de las concentraciones citosólicas de NADPH e incremento de la razón NADH/NAD⁺ se producirá un aumento de la susceptibilidad del tejido nervioso al estrés oxidativo. Las bajas concentraciones de NADPH dificultan la regeneración de glutatión reducido (GSH) por la enzima glutatión reductasa (GR), potenciándose de esta forma el estrés oxidativo. Por otra parte, el incremento de la relación NADH/NAD⁺ produce inhibición de la enzima gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) e incrementa las concentraciones de triosas fosfato, las que pueden incrementar tanto el metilglicoxal (precursor de PTGA) como el diacilglicerol (DAG) (activador de PKC). Adicionalmente la disminución de NAD⁺ en las células endoteliales son resultado

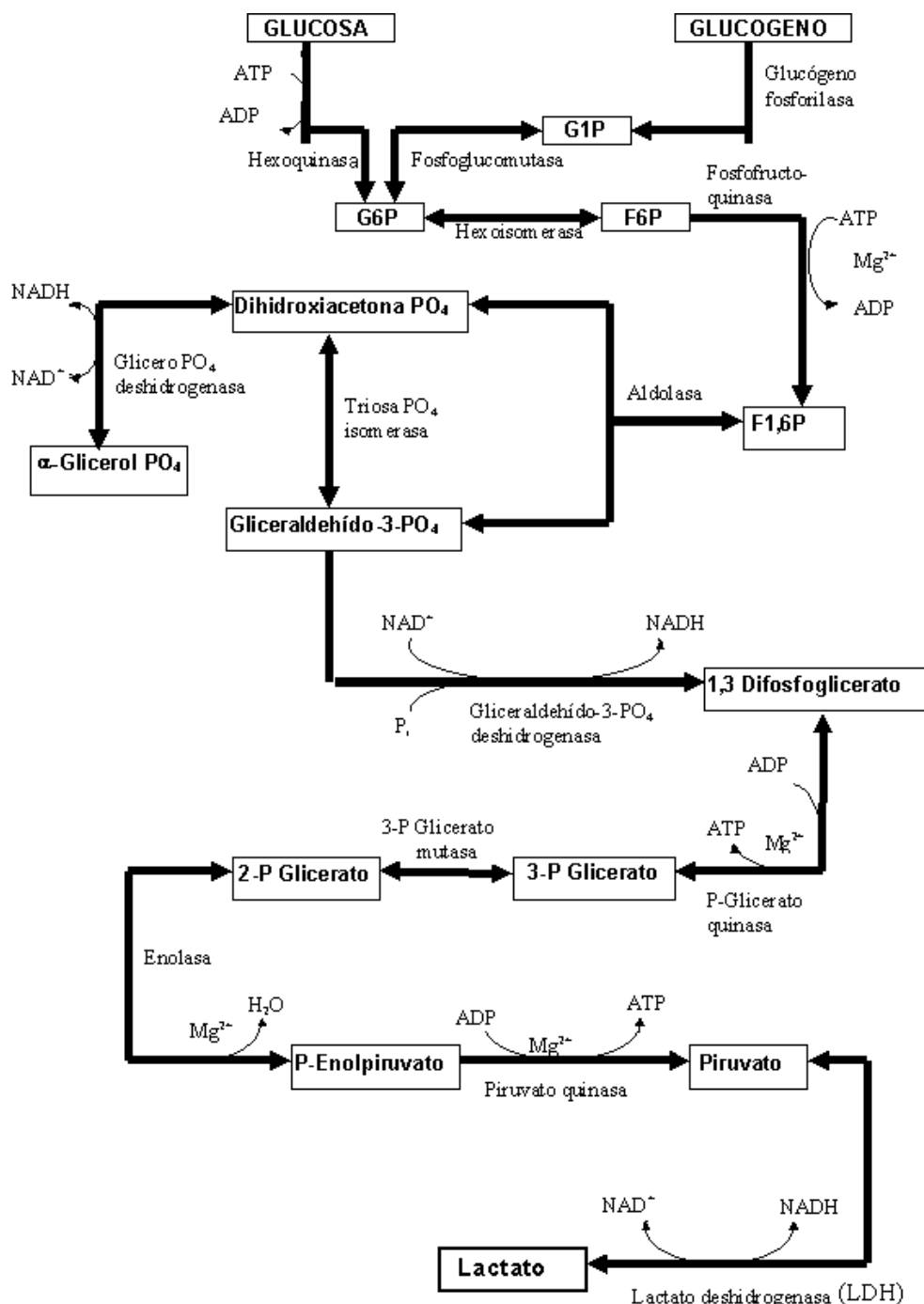


Figura 1. Vía Glucolítica hasta la formación de lactato.

fundamentalmente de la activación de la poli ADP-ribosa polimerasa, proceso mediado por el incremento de ERO (Figs. 3 y 4).

Productos Terminales de la Glicosilación Avanzada

La reacción de la glicosilación avanzada o reacción de Maillard ocurre entre un grupo ceto o aldehído del azúcar reductor y los grupos amino libres de proteínas y aminoácidos. Es una reacción lenta, pues no está catalizada por enzimas. El azúcar y la sustancia proteica forman

una base de Schiff poco estable, y sólo después de algún tiempo, el complejo lábil azúcar/proteína se transforma, por reacción de transposición en un compuesto de Amadori estable.

Finalmente los PTGA se forman a través de una compleja cascada de reacciones de deshidratación, condensación, fragmentación, oxidación y ciclización, obteniendo una mezcla de compuestos heterocíclicos que contienen un oxígeno enlazado al nitrógeno de la proteína. La cantidad de productos formados depende de la

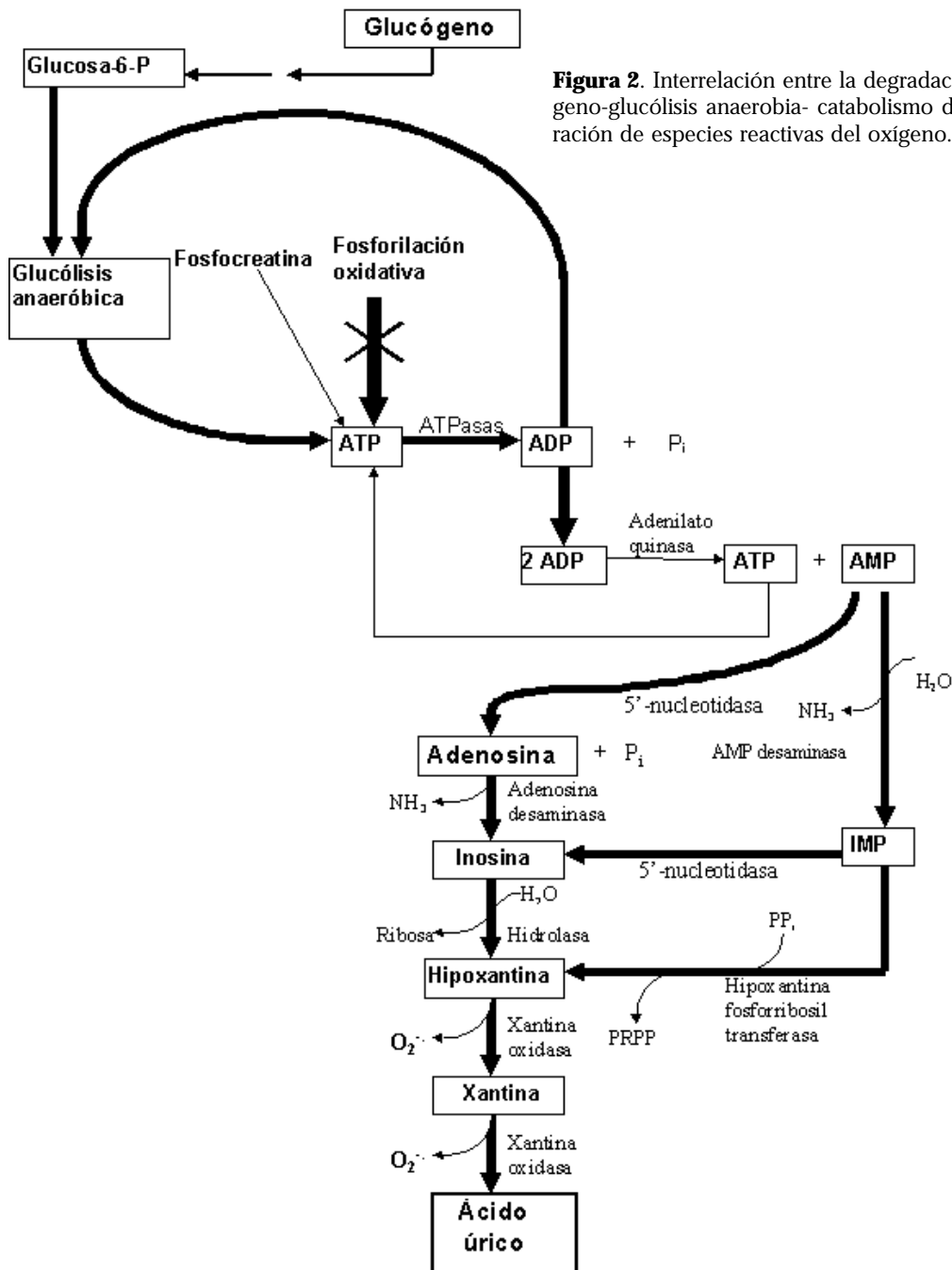


Figura 2. Interrelación entre la degradación de glucógeno-glucólisis anaerobia- catabolismo del ATP-generación de especies reactivas del oxígeno.

concentración de los participantes en la reacción y son capaces de subsistir durante toda la vida de la sustancia proteica, desapareciendo sólo con la degradación de la misma ⁵³. La velocidad de formación de los PTGA, a partir de la glucosa, es mucho menor que la velocidad de formación a partir de los derivados dicarboxílicos de la glucosa generados intracelularmente. En la actualidad se reconoce que la hiperglicemia intracelular es el evento primario tanto para la formación de PTGA intra o extracelular ²⁷.

Los principales mecanismos por los cuales los PTGA pueden causar daños patológicos son

los siguientes: 1) rápida formación de PTGA intracelular por glucosa, fructuosa y otros metabolitos intermediarios de diferentes rutas, para producir proteínas intracelulares modificadas con alteraciones funcionales; 2) modificación de los componentes de la matriz extracelular por precursores de PTGA, ocasionando interacciones anormales con otros componentes de la matriz y con receptores proteicos de la matriz (integrinas); 3) modificación de proteínas plasmáticas que se unen a receptores con PTGA en células endoteliales, mesangiales o macrófagos induciendo producción de ERO y activando el factor

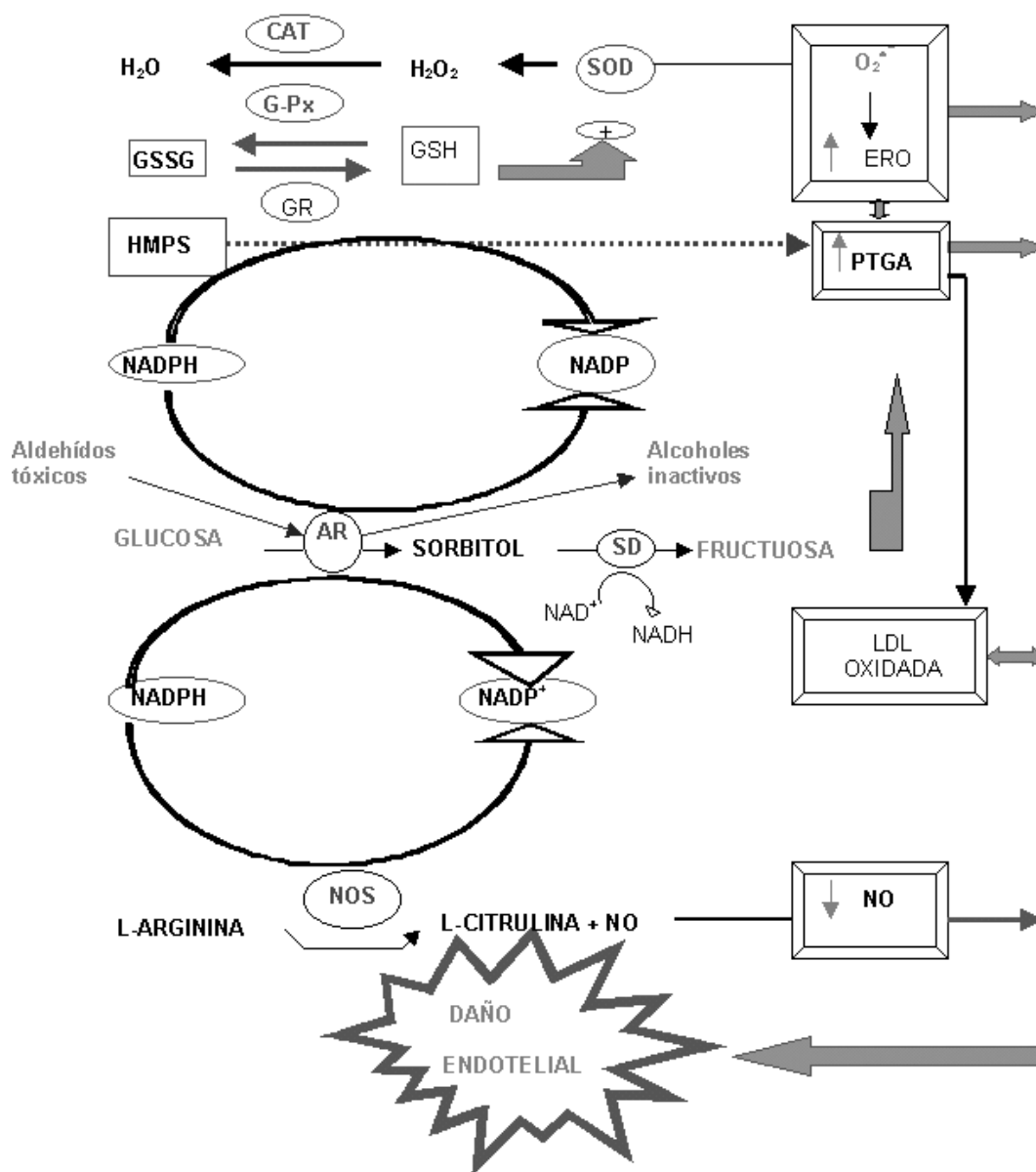


Figura 3. Representación de la interacción de la Ruta del Polioli, la glicosilación avanzada y el estrés oxidativo y sus efectos sobre la función vascular en diabéticos. PTGA (Productos Terminales de la Glicosilación Avanzada); CAT (Catalasa); SOD (Superóxido Dismutasa); GPx (Glutatión Peroxidasa); GSSG/GSH (Glutatión oxidado y reducido); GR (Glutatión Reductasa); HMPH (derivados de la Hexosa Monofosfato); AR (Aldosa Reductasa); SD (Sorbitol Deshidrogenasa); NOS (Óxido Nítrico Sintetasa); LDL (Lipoproteína de Baja Densidad); NO (Óxido Nítrico); ERO (Especies Reactivas de Oxígeno).

nuclear κ B (NF- κ B) que origina modificaciones patológicas en la expresión genética (Fig. 5).

Los PTGA tienen actividad sobre diversas estructuras del organismo: endotelio, membranas basales, matriz extracelular, sistema fagocítico mononuclear, proteínas del sistema nervioso central y otros. A este último nivel, las proteínas más afectadas son las tubulinas, lo que puede explicar la alteración del transporte axonal. La fijación de estos PTGA sobre el endotelio se ha relacionado con un aumento de la permeabilidad, bien por lesión directa o por el aumento del estrés oxidati-

vo, con formación de radicales libres que provocan la lesión celular. No sólo esto: la fijación de los PTGA sobre el endotelio aumenta la actividad procoagulante a dicho nivel. Además, su acción sobre la matriz extracelular provoca proliferación de la misma y disminución de su degradación enzimática. Todo esto se traduce en la aparición de una microangiopatía endoneural, con alteración de la barrera hematoneural, edema, engrosamiento endotelial y de la membrana basal, así como trombosis capilar, que llevaría a la isquemia endoneural y pérdida de fibras nerviosas⁵⁴.

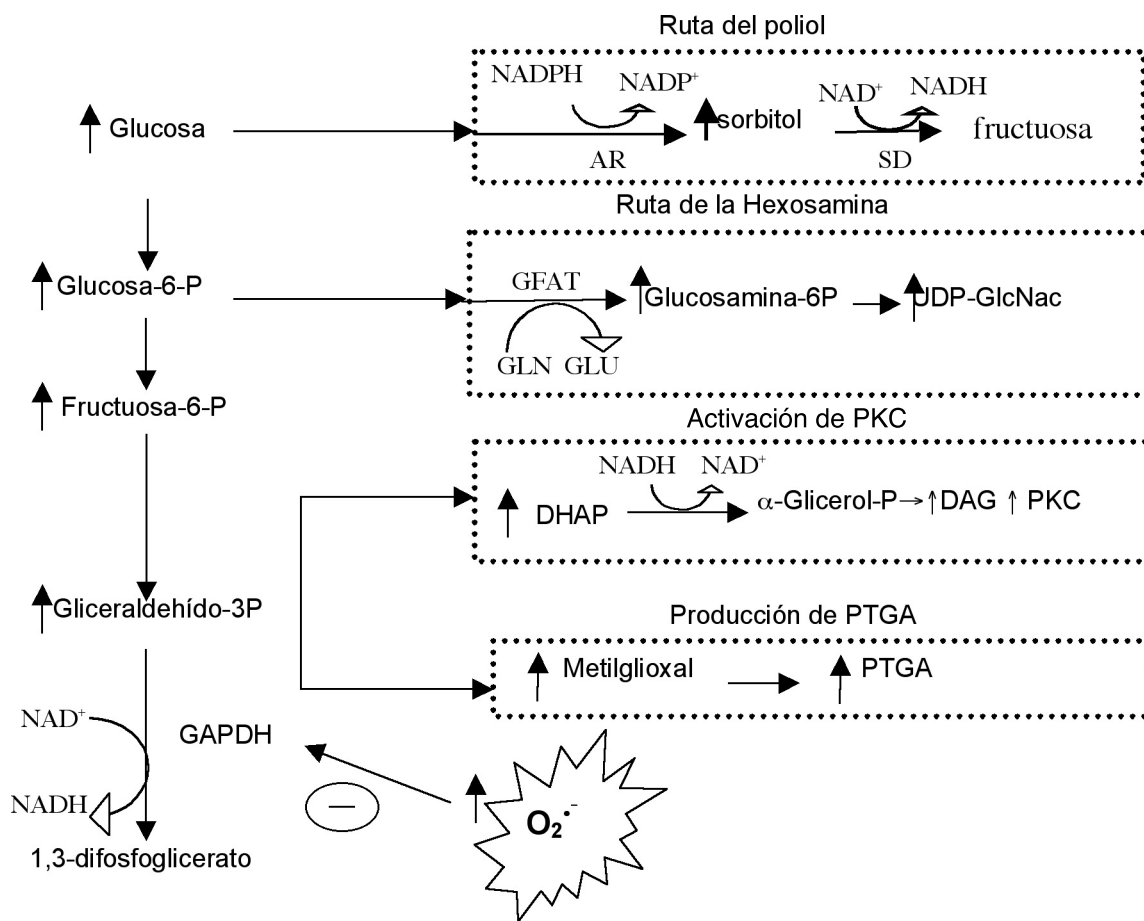


Figura 4. Mecanismo potencial mediante el cual la hiperglicemia produce sobreproducción de $O_2^{\bullet -}$ mitocondrial y se activan las cuatro rutas de generación de daño por hiperglicemia. (GFAT) glucosamina-glutaminafructosa-6-fosfatoaminotransferasa; (GAPDH) gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa; (DHAP) dihidroxiacetona fosfato; (PTGA) Productos Terminales de la Glicosilación Avanzada; (DAG) diacilglicerol; (PKC) protein quinasa C; (GLN) glutamina; (AR) aldosa reductasa; (SR) sorbitol deshidrogenasa; (GLU) glutámico.

Activación de la PKC

La familia de la PKC comprende al menos 11 isoformas, 9 de las cuales son activadas por el segundo mensajero intracelular DAG. La hiperglicemia puede activar además PKC como consecuencia de la unión de PTGA a su receptor o activación de la Ruta del Polioliol, probablemente por el incremento de ERO ²⁷.

Estudios recientes han demostrado que múltiples parámetros, en el metabolismo vascular y funcional, son alterados por la actividad de la PKC inducido por hiperglicemia: 1) disminución de la óxido nítrico sintetasa (NO_s) endotelial (disminuye la producción de NO) e incremento de endotelina 1, lo cual conduce a anomalías en el flujo sanguíneo; 2) induce la expresión del factor promotor de la permeabilidad (VEGF) en células del músculo liso, trayendo aparejado el incremento de la permeabilidad vascular y la angiogénesis; 3) induce expresión de Factor de Crecimiento-transformación β_1 ($TGF-\beta_1$) el cual

incrementa la producción de proteínas como fibronectina y colágeno tipo IV, propiciando la acumulación de proteínas en la matriz microvascular y por lo tanto oclusión vascular; 4) sobreexpresión del factor inhibidor de la fibrinólisis (PAI-1), activación de NF- κ B y regulación de la activación de varias enzimas NADPH dependientes asociadas a membranas, que conduce al desencadenamiento de múltiples efectos.

Activación de la Ruta de las Hexosaminas

La elevación de las concentraciones de glucosa intracelular modifica el funcionamiento de la Ruta de las Hexosaminas. En esta ruta la fructosa 6-fosfato es derivada de la glicólisis hacia la producción de sustratos para las reacciones que requieren UDP-N-acetilglucosamina, como la síntesis de glicoproteínas. A consecuencia de la activación excesiva de esta ruta se producen incrementos en la transcripción de $TGF\alpha$, $TGF\beta_1$ y PAI-1. Aunque el mecanismo transcripcional

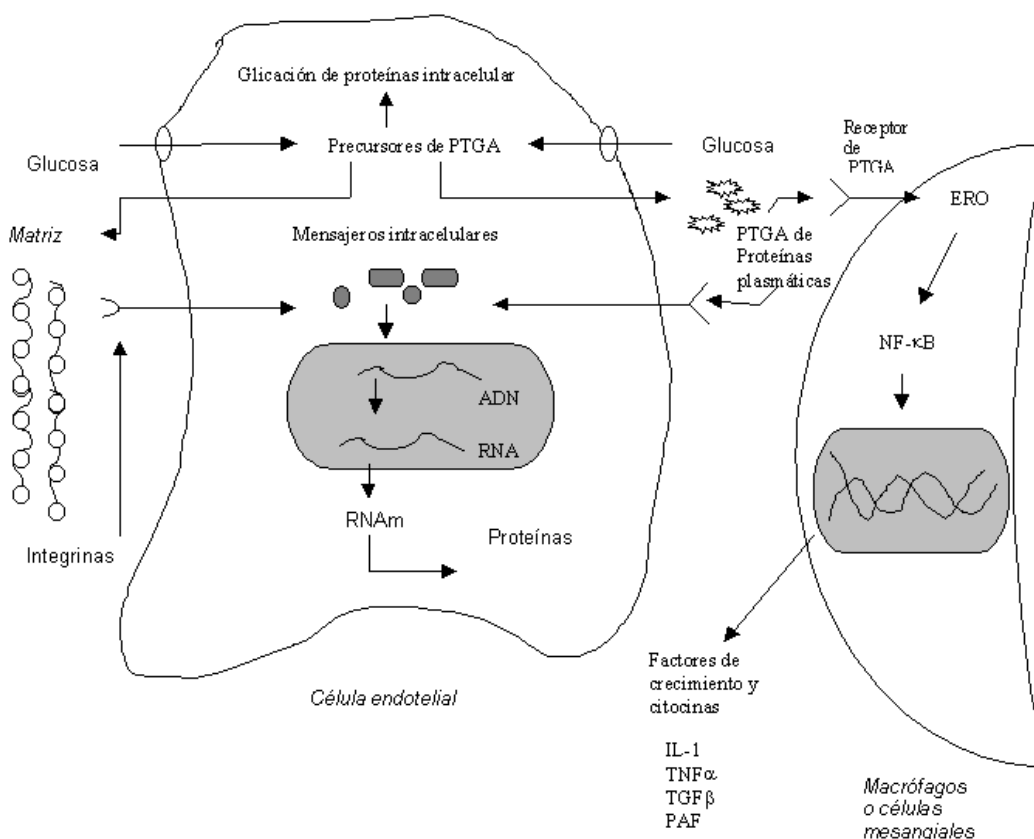


Figura 5. Mecanismo mediante el cual la producción intracelular de precursores de PTGA, y macromoléculas modificadas por PTGA provocan daño a células vasculares. PTGA, Productos Terminales de la Glicosilación Avanzada; IL-1, interleukina 1; TNF α , Factor de Necrosis Tumoral α ; TGF β , Factor de Transformación-Crecimiento β ; PAF, Factor Activador de las Plaquetas; NF- κ B, Factor Nuclear κ B; ERO, Especies Reactivas del Oxígeno.

exacto no está totalmente dilucidado es probable que las modificaciones covalentes del factor de transcripción Sp1 por N-acetilglucosamina puedan explicar la unión entre la activación de esta ruta y los cambios en la transcripción de ciertos genes ⁵⁵. Es por lo anterior que la hiperactivación de la Ruta de las Hexosaminas por hiperglicemia conduce a modificaciones en la expresión génica y a la expresión de proteínas que, en conjunto, contribuyen a la patogénesis de las complicaciones del diabético.

El radical anión superóxido, una ERO común a los 4 mecanismos patológicos asociados a las complicaciones diabéticas

La no aparente relación entre las vías que conducen a las complicaciones diabéticas durante la hiperglicemia fue recientemente elucidada ²⁷ con el descubrimiento de que la activación de estas vías está estrechamente vinculada a la sobreproducción del O₂^{•-} por la cadena de transporte electrónico mitocondrial.

En la actualidad existen controversias sobre si el estrés oxidativo es la causa o la consecuencia de las enfermedades, o si la terapia con antioxidantes puede prevenir o modular su progresión

favorablemente. Es probable que algunas enfermedades sean causadas por perturbaciones en los factores que regulan la producción de ERO. Otras patologías pueden inicialmente ser independientes de estos factores, pero la enfermedad, por sí misma, puede conducir a un incremento del estrés oxidativo que puede exacerbar el daño tisular y la progresión de la enfermedad ⁵⁶.

La DM esta considerada dentro del grupo de los estados fisiopatológicos asociados al estrés oxidativo, desde que fue reportado en pacientes diabéticos un incremento en las concentraciones plasmáticas de Productos Reactivos con el Ácido Tiobarbitúrico, los cuales dan una medida de la POL ^{54,55}. Adicionalmente se ha demostrado que la disminución intracelular de NADPH, por activación de la AR, afecta enzimas antioxidantes como la GR, que conduce a la disminución de GSH, el cual constituye un importante factor en la protección contra el daño por ERO y al decrecimiento de la síntesis de NO (Figura 3). Por otra parte, la autoxidación de los azúcares, y los productos de la glicosilación no enzimática, han sido referidos como productores de ERO ⁵⁹.

Se ha demostrado recientemente que en el estrés oxidativo, originado por los diferentes

mecanismos bioquímicos propuestos, influyen notoriamente la producción de $O_2^{\bullet-}$ mitocondrial, evidenciado por un cúmulo de resultados experimentales (Fig. 4) ²⁷: 1) La hiperglicemia incrementa el gradiente de protones mitocondrial dando como resultado una sobreproducción de donores de e- por el ciclo de los ácidos tricarbónicos. Esto, en respuesta, causa un incremento marcado en la producción de $O_2^{\bullet-}$ por las células endoteliales. 2) La sobreexpresión de la SOD dependiente de Mn (MnSOD) abolió la señal generada por las ERO. 3) La sobreexpresión de la proteína desacoplante-1 (UCP-1) colapsó el gradiente electroquímico protónico previniendo la inducción de ERO por la hiperglicemia. 4) La inhibición, por MnSOD o UCP-1 sobre la sobreproducción de $O_2^{\bullet-}$ mitocondrial, inducido por la hiperglicemia, previno completamente el incremento en la Vía del Poliol, el aumento en la formación de PTGA, la activación

de PKC y el incremento de la Ruta de las Hexosaminas, en células endoteliales ²⁷.

Finalmente, los elementos anteriores sugieren que la interrupción de la sobreproducción de $O_2^{\bullet-}$ proveniente de la cadena de transporte electrónico mitocondrial podría conducir a la normalización de la ruta del poliol, la formación de PTGA, la activación de PKC, la activación de la ruta de las hexosaminas y la activación de NF- κ B. Alcanzar los propósitos anteriores ha sido difícil mediante el uso de antioxidantes convencionales, mientras que agentes miméticos de SOD y CAT, al menos a nivel preclínico, se muestran como agentes terapéuticos potenciales. El uso de estos y otros agentes que logren controlar la sobreproducción de $O_2^{\bullet-}$ podrían ser los únicos agentes clínicamente eficaces en la prevención del desarrollo y progresión de las complicaciones de la DM.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Stringer, M.D. (1989) *Br. Med. J.* **298**: 281-4
- Duffy, P. (1998) *Med. J. Australia. sp. Suppl.* **1**: 8-11
- Ginsberg, H.N. (2000) *J. Clin. Invest.* **106**: 453-8
- Betes, J.G., P.L. Fernández & C.G. Esteso (1999) "NORMON Laboratorios: Manual NORMON", 7ma Edición. Ed. Laboratorios Normon S.A., Dep. de Publicaciones Científicas Madrid, España, pág. 107
- Paul, W.E. & R.A. Seden (1994) *Cell* **76**: 241-5
- Liblan, R.S., S.M. Singer. & H.O. McDevitt (1995) *Immunol. Today* **16**: 3-38
- Tremblean, S., T. Germann, M.K. Gately & L. Adorini (1995) *Immunol. Today* **16**: 383-6
- Poli, G. & E. Albano (1988) "Lipid peroxidation and irreversible hipatocyte damage. Eicosanoids". Lipid peroxidation and cancer. Ed. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, págs. 189-195
- Preuss, H.G. (1997) *J. Am. Coll. Nutr.* **16**: 397-403
- Mendola, J. (1989) *Diabet.* **38**: 379-85
- Miyamoto, I. & H. Miyakoshi (1992) *Endocrinol.* **39**: 421-9
- Puglese, G. (1996) *Diabet.* **43**: 478-80
- Hibbs, J.R. (1990) "Synthesis of nitric oxide from a terminal guanidine nitrogen atom of L-arginine a molecular mechanism regulating cellular proliferation. That targets intracellular iron in nitric oxide from L-arginine. A Bioregulatory System." (Moncada, Hozg S. Ed). New York, págs. 189-223
- Greco, A.V., S. Caputo, A. Bertoli & G. Ghirlanda (1992) *Horm. Metab. Res.* **24**: 280-3
- Jennings, P.E. (1992) *Metab. Elin. Exp.* **41**: 36-9
- Hanberg, A. (1993) *Diabetol.* **36**: 668-74
- Reaven, G.M. (1998) *Diabet.* **37**: 1595-607
- Riley, P.A. (1994) *Int. J. Radiat. Biol.* **65**: 27-33
- Aungustin, A.J., W. Breipohl & T. Bokert (1993) *Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* **231**: 647-50
- Gutteridge, J.M. (1987) *Pharmacol. J.* **239**: 401-6
- Michael, J., J. Atul & S. Taylor (1994) *Trends Endocrinol. Metab.* **5**: 369-76
- Erkson, J. (1997) *Diabetol.* **40**: 125-35
- Rabinovich, A. (1998) *Diabet. Metab. Rev.* **14**: 129-51
- Romero, A. (1989) *Rev. Soc. Esp. Farm. Hosp.* **13**: 317-27
- Schlondorff, D. (1993) *Amer. J. Kidney Dis.* **22**: 72-82
- Williansom, J. R. (1998) *Diabet.* **42**: 801-13
- Brownlee, M. (2001) *Nature.* **414**: 813-20
- Nakamura, S. et al. (1997) *Diabetes* **46**: 895-899
- Gray, E. & T.W. Barrowdiffe (1985) *Tromb. Res.* **37**: 241-50
- Barrowdiffe, T.W. (1987) *Agent Actions.* **22**: 347-8
- Borkman, M. (1998) *Diabet.* **38**: 1314-9
- Brunmark, J., E. Cadenas & C. Lind (1987) *Free Radic. Biol. Med.* **3**: 181
- Menéndez, S., J. Fernández-Montequín & J. Turrent (1998) *Rev. CENIC Cienc. Biológ.* **29**: 165-73
- Frykberg RG. (2002) *Amer. Fam. Physician.* **66**: 1655-62
- Licea, M. (1996) *Rev. Cubana Endocrinol.* **7**: 3-4
- Pieper, G.M., K. Dembny & W. Siebeneich (1998) *Diabetol.* **41**: 1220-6
- Tilton, R.G., T. Kawamura & K.C. Chang (1997) *J. Clin. Invest.* **99**: 2192-202
- Heinecke, J.W. (1997) *Curr. Opin. Lipidol.* **8**: 268-74
- Ahmed, M.V, F.E. Brinkmann & T. P. Degenhardt (1997) *Biochem. J.* **324**: 565-70
- Altomare, E., I. Grattagliano & G. Vendemaile (1997) *Eur. J. Clin. Invest.* **27**: 141-7
- Schliecher, E.D., E. Wagner & A.G. Nerlich (1997) *J. Clin. Invest.* **99**: 457-68
- West, I.C. (2000) *Diabet. Medic.* **17**: 171-80
- Aruoma, O. I., B. Hallinuell & B.M. Hoeny (1989) *Free Radic. Biol. Med.* **6**: 593-7
- Ceriello, A. (1997) *Diabet. Med.* **14**: S45-S9
- Rösen, P., P.P. Nawroth & G. King (2001) *Diabet. Metab. Res. Rev.* **17**: 189-212
- Sadaivudu, B., M. Sasikala & V. Sailaja (1997) *Med. Sci. Res.* **25**: 631-3
- Henrikson, E.J., S. Jacob & R.S. Streeper (1997) *Life Sci.* **61**: 805-12
- Konrad, T., P. Vicini & K. Kusterer (1999) *Diabet. Care.* **22**: 280-7
- Cameron, N.E. & M.A. Cotter (1994) *Diabet. Metab. Rev.* **10**: 189-224
- Iwata, Y., S. Naito & A. Itai (2001) *Drug. Des. Discov.* **17**: 349-59
- Bruno, G., L. Constantino & C. Curinga (2002) *Biorg. Med. Chem.* **10**: 1077-84
- Rastelli, G., A.M. Ferrari & L. Constantino (2002) *Biorg. Med. Chem.* **5**: 1437-50
- Ruggiero, L., J.S. Rossi & J.O. Prochaska (1999) *Adict. Behav.* **24**: 573-8
- King, G. (1996) *Endocrinol. Metabol. Clin. North Am.* **25**: 255-66
- Chen, Y.Q. (1998) *J. Biol. Chem.* **273**: 8225-31
- Delanty, N. & M.A. Dichter (1998) *Acta Neurol. Scand.* **98**: 145-53
- Coppola, L. (1995) *Diabet. Metabol.* **21**: 252- 5
- Rakesh, K., K. Jawahar & V.M. Subrahmanyam (1995) *Mol. Cell Biochem.* **151**: 113-9
- Banefont-Rousselot, D., J.P. Bastard & M.C. Jaudon (2000) *Diabet. Metab.* **26**: 163-76