

BIBLIOTECA DE LA



Sociedad Española de Diabetes

1

PREDIABETES Y
DIABETES TIPO 1
DE RECIENTE
DIAGNOSTICO

Coordinador
I. Conget

Grupo de trabajo de Prediabetes tipo 1
de la Sociedad Española de Diabetes (SED)

PREDIABETES Y DIABETES TIPO 1 DE RECIENTE DIAGNÓSTICO

PREDIABETES Y DIABETES TIPO 1 DE RECIENTE DIAGNÓSTICO

*Grupo de trabajo de Prediabetes
tipo 1 de la Sociedad
Española de Diabetes (SED)*

Coordinador
Ignacio Conget

Coordinadora de la Biblioteca SED: Ana Chico. Vocal de la Junta Directiva de la SED. Coordinadora de los Grupos de Trabajo

Edita:



©2006 Sociedad Española de Diabetes (SED)

©2006 Ediciones Mayo, S.A.

Aribau, 185-187 / 08021 Barcelona

Segre, 29 / 28002 Madrid

ISBN: 84-96537-12-9

Preimpresión: M4 Autoedición Asociados, S.L.

Depósito legal: B-1.084-06

Impresión: Press Line

Impreso en España-*Printed in Spain*

Reservados todos los derechos. No se puede reproducir ninguna parte de esta publicación, ni almacenarla en un sistema recuperable, ni transmitirla por ningún medio electrónico, mecánico, fotocopiado, en discos, ni de cualquier otra forma, sin la previa autorización escrita de los propietarios del *copyright*.

El empleo de los nombres registrados, marcas registradas, etc., en esta publicación, no significa –incluso en ausencia de declaración explícita– que tales nombres están exentos de las leyes y reglamentos protectores pertinentes y que por tanto pueden emplearse libremente.

Responsabilidad de productos: el editor no puede garantizar los datos sobre posología y aplicaciones de los medicamentos indicados en este libro. En cada uno de los casos, el usuario tiene que comprobar su precisión consultando otra literatura farmacéutica.

www.edicionesmayo.es

Sociedad Española de Diabetes (SED)

Junta Directiva

Presidente. *Dr. Ramon Gomis*

Hospital Clínic i Provincial. Barcelona

Vicepresidenta 1ª. *Dra. Mirentxu Oyarzábal*

Hospital «Virgen del Camino». Pamplona

Vicepresidenta 2º. *Dra. Adela Rovira Loscos*

Fundación «Jiménez Díaz». Madrid

Secretaria. *Dra. Sharona Azriel Mira*

Hospital «Doce de Octubre». Madrid

Vicesecretario. *Dr. Juan Emilio Feliu Albiñana*

Institut de Recerca. Hospital «Vall d'Hebron». Barcelona

Tesorero. *Dr. Antonio Luis Cuesta Muñoz*

Complejo Hospitalario «Carlos Haya». Málaga

Vocal 1º. *Dr. Francisco Merino Torres*

Hospital Universitario «La Fe». Valencia

Vocal 2º. *Dra. Ana Chico Ballesteros*

Fundación Sardá Farriol. Barcelona

Vocal 3º. *Dr. José Antonio Mato Mato*

Hospital Ntra. Sra. de Cristal. Orense

Vocal 4º. *Dr. Josep Franch Nadal*

ABS Raval Sud-ICS Drassanes. Barcelona

Vocal 5º. *Dr. Alfonso López Alba*

Hospital Universitario de Canarias. Tenerife

Los autores de este libro agradecen,
a la vez que representan, al resto de
miembros del Grupo de Trabajo
de Prediabetes tipo 1 de la
Sociedad Española de Diabetes (SED)

ÍNDICE DE AUTORES

- **Domingo Acosta**
Unidad de Gestión Clínica de Endocrinología y Nutrición.
Hospitales Universitarios Virgen del Rocío. Sevilla
- **Ignacio Conget**
Coordinador del Grupo de trabajo de Prediabetes tipo 1
de la SED. Servicio de Endocrinología y Diabetes. ICMDM.
Hospital Clínic i Universitari. Barcelona
- **Carmen Fajardo**
Hospital de la Ribera. Alzira. Valencia
- **Fernando Gómez-Peralta**
Departamento de Endocrinología y Nutrición. Clínica
Universitaria de Navarra. Pamplona
- **José Miguel González-Clemente**
Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital de
Sabadell. Barcelona
- **Dídac Mauricio**
Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital de la Santa
Creu i Sant Pau. Barcelona

- **Francisco Piñón**

Hospital Universitario La Fe. Valencia

- **M^a Ángeles Pomares**

Unidad de Gestión Clínica de Endocrinología y Nutrición.
Hospitales Universitarios Virgen del Rocío. Sevilla

- **María del Carmen Puertas**

Laboratori d'Immunobiologia per a la Recerca i el
Diagnòstic (LIRAD) i Centre de Transfusions i Banc de
Teixits (CTBT). Institut Fundació Germans Trias i Pujol.
Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona.
Barcelona.

- **María José Redondo**

Departamento de Endocrinología y Nutrición. Clínica
Universitaria de Navarra. Pamplona

- **Joan Verdaguer**

Laboratori d'Immunobiologia per a la Recerca i el
Diagnòstic (LIRAD) i Centre de Transfusions i Banc de
Teixits (CTBT). Institut Fundació Germans Trias i Pujol.
Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona.
Barcelona.

ÍNDICE DE CAPÍTULOS

Introducción

I. Conget

1

De la susceptibilidad al debut clínico. Historia natural de la diabetes tipo 1 antes del diagnóstico

MJ Redondo, F Gómez-Peralta

5

La diabetes tipo 1 como enfermedad mediada por células T. De los modelos animales al ser humano

J Verdaguer, MC Puertas

25

Prevención de la diabetes tipo 1. Lecciones tras la decepción inicial

D Mauricio, JM González-Clemente

51

Estudios de intervención en la diabetes tipo 1 de reciente diagnóstico. ¿Nos queda algo por probar?

D Acosta, MÁ Pomares

67

**«The accelerator hypothesis».
Jaque al concepto clásico de diabetes
mellitus tipo 1**

C Fajardo, F. Piñón

85

Índice alfabético de materias

111

Prediabetes y diabetes tipo 1 de reciente diagnóstico. Introducción

I. Conget

La diabetes mellitus tipo 1 (DM1) se considera una enfermedad inmunoinflamatoria crónica en la que existe una destrucción selectiva de las células beta del páncreas mediada por linfocitos T activados. Cuando la masa de células productoras de insulina llega a un nivel crítico, tras un periodo preclínico de duración variable en que el paciente permanece asintomático, se presenta la sintomatología clásica generada por la falta de insulina y la hiperglucemia: poliuria, polidipsia, polifagia, pérdida de peso y una irrefrenable tendencia a la cetosis si no se instaura tratamiento con insulina exógena.

Frente a los números desorbitados que caracterizan a la diabetes mellitus tipo 2, las connotaciones propias de la DM1, las peculiaridades de su tratamiento, el impacto que genera el diagnóstico de esta enfermedad y la circunstancia de que más del 50% de los nuevos casos se diagnostican en la edad pediátrica explican el hecho de que, aunque esta entidad sólo suponga 1 de cada 10 casos de diabetes, su importancia real sea mucho mayor que los números que la representan. En nuestro país, se diagnostican alrededor de 10 nuevos casos por cada 100.000 habitantes/año y el mayor número de casos se produce entre los 10-12 años.

Durante las décadas de los setenta y los ochenta se sentaron las bases para clarificar el origen de la DM1 como enfermedad autoinmune (en la gran mayoría de casos). A lo largo de esos años y de la siguiente década, se han sucedido aportaciones fundamentales en cuanto a los antígenos, los anticuerpos, y los determinantes genéticos y ambientales que se relacionan con la aparición de la enfermedad. En los noventa eclosionan toda una serie de estudios dirigidos a prevenir la aparición y a tratar eficazmente la enfermedad y sus complicaciones. Sobre todos ellos cabe destacar el DCCT (Diabetes Control and Complications Trials) y su continuación en el estudio EDIC (Epidemiology of Diabetes Intervention and Complications) en donde se pone de manifiesto la relación entre el estricto control glucémico y la aparición y progresión de las complicaciones crónicas microvasculares. Durante esos años, y *a posteriori*, son ingentes los esfuerzos que se realizan en busca de alternativas terapéuticas en forma de nuevas insulinas y nuevas formas de administración de la hormona, que cristalizan en análogos de acción rápida y lenta. Del mismo modo, la posibilidad de sustituir la masa de células beta productoras de insulina destruidas durante el proceso de agresión inmunológica ha centrado el interés de los enormes esfuerzos llevados a cabo en los últimos años en forma de trasplantes alogénicos de islotes pancreáticos, xenotrasplantes, trasplantes de células pluripotenciales o troncales y nuevas alternativas de inmunomodulación. Asimismo, hemos asistido a la publicación de los resultados de los dos grandes estudios internacionales que han abordado la prevención de la DM1 en pacientes con riesgo de desarrollar la enfermedad. En concreto, el estudio DPT (Diabetes Prevention Trial) y el ENDIT (European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial) ya han comunicado sus primeros resultados y, desafortunadamente, ambos han sido poco alentadores en cuanto a la utilidad de la insulina y la nicotinamida, respectivamente, a la hora de prevenir la enfermedad. Todos estos datos, y el tiempo que se ha invertido para conseguirlos, nos demues-

tran lo complejo que es el proceso y deberían alejarnos de cualquier tentación de minusvalorar el problema.

Cuando la Sociedad Española de Diabetes (SED) nos propuso la confección de este libro, los integrantes del Grupo de Trabajo de la Prediabetes tipo 1 no lo dudamos un momento, y nuestra respuesta fue rotundamente afirmativa. De hecho, consideramos que se nos ofrecía una oportunidad de oro para contrarrestar la abrumadora cantidad de información generada por los estudios centrados en la diabetes de tipo 2, y de paso reivindicar el hueco que merece la DM1 en las actividades generadas dentro de la SED. En el contenido del estudio hemos querido profundizar en los temas más candentes y de mayor interés en el ámbito de la prediabetes tipo 1, y para ello han colaborado integrantes del grupo con experiencia en cada uno de ellos. El propósito final del libro no es otro que el de proporcionar una puesta al día de toda aquella información que permita al profesional dedicado a la atención del paciente con DM1 progresar en los aspectos preventivos, de detección precoz y terapéuticos, con el fin de mejorar la calidad de vida de todas aquellas personas afectadas por esta enfermedad.

De la susceptibilidad al debut clínico. **Historia natural de la diabetes tipo 1 antes del diagnóstico**

M.^a J. Redondo, F. Gómez-Peralta

Introducción

La diabetes mellitus tipo 1 autoinmune (diabetes tipo 1A) representa un 5-10% de todos los casos de diabetes mellitus. Afecta a 1/300 niños en el mundo. La incidencia de diabetes tipo 1 (DM1) está sujeta a amplias variaciones geográficas: la más alta corresponde a Finlandia, con más de 40 casos anuales por cada 100.000 habitantes, seguida de Cerdeña, con unos 30 casos anuales por cada 100.000 habitantes. Las incidencias más bajas (menos de un caso anual por cada 100.000 habitantes) se dan en China y América del Sur. La incidencia en España es intermedia, con unos 12-20 casos anuales por cada 100.000 habitantes según las regiones. La DM1 puede ser diagnosticada a cualquier edad, desde los pocos meses de vida hasta la octava o novena década. Sin embargo, existe un marcado pico de incidencia (que comprende casi la mitad de los casos) alrededor de la pubertad, entre los 11-14 años. Podría haber un segundo pico hacia los 40 años de edad, aunque muchos de estos casos se diagnostican como diabetes tipo 2 (DM2) por error o, más recientemente, como diabetes autoinmune de progresión lenta (LADA, *latent autoimmune diabetes in adults*). En las últimas déca-

das, se ha observado un aumento de los casos nuevos de DM1, especialmente de casos diagnosticados en niños menores de cinco años. Esta tendencia secular ha sido interpretada como indicador de la implicación etiológica tanto de factores ambientales (por ejemplo, la llamada «hipótesis de la higiene» establece que la ausencia de exposición a patógenos como los helmintos en los niños favorece el desencadenamiento de autoinmunidad) como de la DM2 y la obesidad, ambas con incidencia creciente en la infancia. La potencial interacción entre la obesidad y la DM1 constituye la base de la llamada «hipótesis del acelerador», que se discute ampliamente en otro capítulo de esta publicación. En poblaciones con alta incidencia de DM1, existe un ligero predominio masculino que parece estar restringido a los pacientes diagnosticados con más de 15 años de edad y portadores de un genotipo HLA (*Human Leucocyte Antigen*, antígeno leucocitario humano) con *DR3* sin *DR4*.

Modelo actual sobre la historia natural de la autoinmunidad contra las células beta y la diabetes tipo 1

El primer indicio de la posible implicación de factores genéticos en la etiología de la DM1 fue la observación de la existencia de agrupación familiar. A pesar de que un 85% de los casos recién diagnosticados de DM1 es esporádico (es decir, se dan en individuos que no tienen antecedentes familiares positivos), los familiares de un paciente con DM1 comparados con la población general tienen un incremento del riesgo de desarrollar diabetes. La agrupación familiar (llamada *lambda-s*) se define como el cociente del riesgo de los hermanos dividido entre la prevalencia en la población general. Este valor es de aproximadamente 15 para la DM1. El riesgo de DM1 es de 0,4% en la población general, comparado con el 6% en los hermanos de un paciente con DM1, el 1,3-4% en los hijos de una paciente (mujer) y el 6-9% en los hijos de un paciente (hombre).

Los estudios de gemelos han sido una pieza clave en el descubrimiento de la contribución relativa de factores ambientales y factores genéticos en la etiología de diversas enfermedades. Varios estudios con gemelos han confirmado que la tasa de concordancia para DM1 es mayor entre los monocigotos que entre los dicigotos. Los gemelos monocigotos comparten casi todos sus genes y los dicigotos sólo comparten la mitad de ellos: este hallazgo apoya la implicación etiológica de los factores genéticos. Los marcadores genéticos que confieren riesgo o protección frente a la DM1 se detallan más adelante en este capítulo.

Por otra parte, la concordancia para DM1 entre gemelos monocigotos no es del 100% sino que, después de 40 años de seguimiento tras el diagnóstico de diabetes en el gemelo índice, «sólo» el 50% de los gemelos no índices desarrollan a su vez diabetes. Este hecho indica que los factores genéticos heredados, que son idénticos entre gemelos monocigotos, no explican completamente la aparición de DM1, y que es necesaria la intervención de factores genéticos no heredados (es decir, que no son de la línea germinal, como genes que mutan o genes que sufren reordenamiento) o de factores ambientales. Por otra parte, la incidencia de DM1 presenta diferencias geográficas, variaciones estacionales y un incremento secular, datos que apoyan la implicación de factores ambientales.

Entre los que en este momento se consideran más probables están algunos elementos de la dieta y ciertos virus. Algunos estudios observacionales, especialmente en el norte de Europa, encontraron una asociación entre el consumo de leche de vaca en la primera infancia (en contraposición a la lactancia materna) y el desarrollo de DM1, aunque esta asociación no fue confirmada en otros estudios. El TRIGR (Trial to Reduce IDDM in the Genetically at Risk), actualmente en marcha y en el que participan 15 países (incluido España), analiza en estos momentos si la leche de vaca durante la primera infancia incre-

menta el riesgo de DM1. En cuanto a los virus, sólo existe evidencia concluyente de su diabetogenicidad para la rubeola congénita, que produce DM1 en el 70% de los niños afectados. Otros virus para los que se han encontrado indicios de asociación son los rotavirus, los virus herpes, la infección con ecovirus 6 durante el embarazo y los virus coxackie B. Hay datos que sugieren que ciertos virus podrían inducir citolisis directa de la célula beta, mientras que otros (probablemente más frecuentes) podrían desencadenar una respuesta autoinmune que se ve después amplificada y perpetuada por la infiltración de linfocitos, la secreción de citocinas y los cambios en la especificidad de los epítopes y los antígenos diana. Algunas de las hipótesis que podrían explicar la iniciación de la respuesta autoinmune por los virus son el mimetismo molecular; por ejemplo, en el caso de los virus coxackie, que contienen una secuencia PEVKEK homóloga con el antígeno GAD (*Glutamic Acid Decarboxylase*, decarboxilasa del ácido glutámico), asociado a la DM1 y que, según esta hipótesis, provocaría una respuesta cruzada contra la célula beta. Otro mecanismo de diabetogenicidad es ejemplificado por los adenovirus, que contienen proteínas inmunomoduladoras que interfieren con la presentación de antígenos mediada por las moléculas de histocompatibilidad (*major histocompatibility complex*, MHC) de clase I, y las células infectadas adquieren resistencia a la apoptosis inducida por citocinas. La infección por enterovirus se ha asociado a la presencia de autoinmunidad contra las células beta en diversos estudios recientes; por ejemplo, el DIPP (Diabetes Prediction and Prevention), un estudio finlandés.

También podría ser que la ausencia de determinados factores ambientales indujera autoinmunidad y DM1. La llamada «hipótesis de la higiene» propugna que la ausencia de exposición a microbios y parásitos antes comunes, especialmente en la infancia, favorece el desarrollo de autoinmunidad. El incremento secular en la incidencia de DM1, coincidente con una mejoría en las con-

diciones sanitarias de la población, apoya esta hipótesis. El mecanismo fisiopatogénico subyacente sería la falta del estímulo (infecciones) para el desarrollo de respuestas inmunes Th2 (*T lymphocyte helper*, linfocito T de ayuda) contrarreguladoras, protectoras contra algunas de las enfermedades autoinmunes, por ejemplo, la DM1, con el consiguiente desequilibrio Th1-Th2.

Las interacciones entre genes y ambiente probablemente desempeñen un papel clave en la etiología y la patogenia de la DM1. Como se detallará más adelante en este capítulo, la ineffectividad de ciertos tipos de moléculas del sistema HLA para presentar péptidos (por ejemplo, determinados factores ambientales) a las células T podría desencadenar autoinmunidad y DM1. Ciertos virus serían capaces de desencadenar una respuesta inmune y diabetes en individuos con determinadas características genéticas.

La figura 1 representa el modelo aceptado en la actualidad sobre la historia natural de la autoinmunidad contra las células

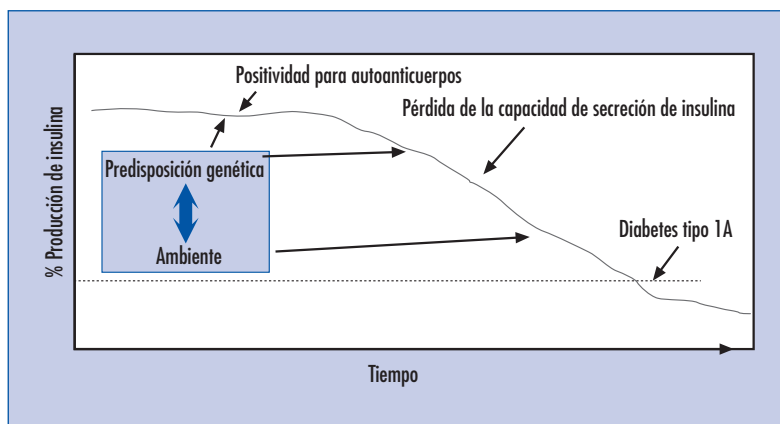


Figura 1. Historia natural de la autoinmunidad contra los islotes y la diabetes tipo 1. Adaptado de Redondo et al. Recent Prog Horm Res. 2001; 56: 69-89. Copyright 2001, The Endocrine Society

beta y la DM1. En individuos genéticamente predispuestos y expuestos a ciertos factores ambientales, se desencadena la destrucción autoinmune específica de las células beta del páncreas. Esta destrucción está mediada por células T y da lugar a la aparición de autoanticuerpos específicos detectables en sangre. En la mayoría de los casos, la destrucción de células beta progresa hasta que alcanza un porcentaje crítico, en el que se manifiesta la diabetes (hiperglucemia). No existen en la actualidad métodos fiables para estimar la masa pancreática, por lo que se emplean métodos indirectos como la medición de los niveles de insulina en una prueba de tolerancia a la glucosa intravenosa. La reducción o desaparición de la primera fase de secreción de insulina es un indicador de disfunción de células beta. La destrucción de estas células puede ocurrir de forma fulminante o tardar muchos años en completarse. Entre los casos fulminantes están los niños diagnosticados de DM1 antes de cumplir un año de edad. Existe también un síndrome de DM1 fulminante descrito en pacientes japoneses, cuyas características inmunológicas parecen diferir del tipo más lento y más frecuente de diabetes. En el otro extremo del espectro, están los casos de destrucción muy lenta, en lo que se ha denominado diabetes autoinmune latente en adultos (LADA, *latent autoimmune diabetes in adults*). También es posible que el proceso de destrucción de células beta se detenga y hay casos bien documentados, aunque excepcionales, de normalización de la primera fase de secreción de insulina, así como de negativización de los autoanticuerpos. En la mayoría de los casos, la hiperglucemia posprandial precede a la hiperglucemia en ayunas. En el momento del diagnóstico, suele existir un porcentaje de células beta con capacidad funcional. Esta función residual da lugar a la llamada fase de «luna de miel» (o periodo de remisión) en la que, superada la etapa inicial de glucotoxicidad de las células beta (marcada por niveles indetectables de péptido C y altas necesidades de insulina), se produce una disminución de los requerimientos de insulina y el péptido C aumenta ligera-

mente, aunque no hasta niveles normales. Con el tiempo, las células beta residuales son destruidas, lo que conduce a la desaparición del péptido C, a la necesidad de aumentar la dosis de insulina y a un empeoramiento del control metabólico de la diabetes. Más adelante, los anticuerpos, marcadores de la destrucción de células beta, se negativizan.

Marcadores de susceptibilidad para diabetes tipo 1

Los marcadores de susceptibilidad para DM1 empleados en la actualidad son (1) genéticos, (2) inmunológicos (autoanticuerpos antislotes) y (3) metabólicos (disminución de la función de las células beta).

Marcadores genéticos

«IDDM1»: genes de la región de HLA

La asociación entre la DM1 y genes del HLA se conoce desde hace treinta años. Aunque se describió primero la asociación con alelos HLA de clase II *DR4* y *DR3*, hoy sabemos que la mayor parte de esta asociación se debe al ligamiento entre *DR* y *DQ*. En poblaciones de origen caucásico, los haplotipos asociados con el máximo riesgo de DM1 son dos: 1) *DQA1*0301-DQB1*0302* (también llamado *DQ8*) con los alelos *DRB1*0401*, **0402* o **0405*, y que presenta ligamiento con *DR4*, aunque hay amplias variaciones interracialas. 2) *DQA1*0501-DQB1*0201* (también llamado *DQ2*) con el alelo *DRB1*0301*, ligado a *DR3*, en el haplotipo *DR3-DQA1*0501-DQB1*0201*, con escasas variaciones interracialas.

El genotipo de mayor riesgo es el heterocigoto *DR3-DQ2/DR4-DQ8*. En la población estadounidense, este genotipo es seguido a corta distancia del homocigoto *DR4-DQ8* y, con un riesgo significativamente inferior, el homocigoto *DR3-DQ2*. El 90% de los individuos con DM1 tienen por lo menos uno de los dos haplotipos

HLA de riesgo, en contraste con el 20% de la población general. Aproximadamente un 35% de los pacientes con DM1 en EE.UU. son heterocigotos *DR3/DR4*, comparado con sólo un 2,4% en la población general. El estudio DAISY (Diabetes and Autoimmunity Study in the Young) encontró que casi el 50% de los niños que desarrollan DM1 antes de los 5 años de edad tienen el genotipo HLA *DR3-DQA1*0501-DQB1*0201/DR4-DQA1*0301-DQB1*0302*. En la población española, el genotipo de máximo riesgo es también *DR3-DQ2/DR4-DQ8*, pero, en otros genotipos, el haplotipo *DR3-DQ2* parece asociarse a mayor riesgo que *DR4-DQ8*.

El riesgo conferido por *DQ8* es modificado por el alelo *DRB1* presente en el mismo haplotipo. Los alelos *DRB1*0402*, **0401* y **0405* están asociados con alta susceptibilidad para DM1, el alelo *DRB1*0404* está asociado con moderada susceptibilidad y el *DRB1*0403* con protección contra DM1. *DRB1*0401* es el alelo asociado con la mayor susceptibilidad en la mayoría de las poblaciones de origen caucásico, mientras que *DRB1*0402* y **0405* parecen más importantes en las poblaciones mediterráneas e israelíes. El alelo *DQA1*0301*, que se encuentra con frecuencia en haplotipos *DR4*, al igual que **0101*, **0102*, **0103* y **020* (alelos *DQA1* 1-3) están asociados con niveles altos de anticuerpos antinsulina.

En general, los hermanos de un paciente con diabetes tienen un riesgo de desarrollar diabetes de aproximadamente un 6%, como se ha indicado más arriba. Sin embargo, en los hermanos portadores del mismo HLA que el paciente con DM1, el riesgo aumenta al 20%. En el estudio DAISY, aproximadamente un 50% de los hermanos de un paciente con DM1 y que han heredado el genotipo *DR3-DQ2/DR4-DQ8* desarrollan anticuerpos antislotes antes de los 3 años de edad y tienen un elevado riesgo de diabetes. Los hijos de un paciente con DM1 y que han heredado el mismo genotipo que el paciente con diabetes tienen un riesgo del 25%.

También hay haplotipos y genotipos HLA que se asocian a protección frente a DM1. El alelo protector mejor conocido es *DQB1*0602*, que normalmente se encuentra en haplotipos *DR2 (DRB1*1501-DQA1*0102-DQB1*0602)*. Aproximadamente un 20% de los norteamericanos y los europeos de la población general tiene el haplotipo *DQA1*0102-DQB1*0602*, mientras que sólo aparece en un 1% de los niños con DM1. La protección conferida por el haplotipo *DQA1*0102-DQB1*0602* parece ser dominante, ya que persiste en presencia de un haplotipo de alto riesgo en el mismo individuo. El efecto protector del haplotipo extendido *DR2-DRB1*1501-DQA1*0102-DQB1*0602* parece deberse sobre todo a la molécula *DQ* y no a *DRB1*1501*. El efecto protector del alelo *DQB1*0602* frente a la diabetes no es absoluto, ya que se han descrito individuos con este alelo que han desarrollado autoanticuerpos y DM1. Cabe señalar que el efecto de este alelo podría ser menos potente en poblaciones no caucásicas, como en la raza negra y en la raza hispana (al menos, en individuos procedentes de México). El alelo *DQB1*0602* no es protector frente a la diabetes autoinmune de progresión lenta (LADA).

Probablemente existan otros alelos HLA que ofrezcan protección frente a DM1. Sin embargo, su baja frecuencia en la población general dificulta su estudio, ya que son necesarios tamaños muestrales grandes para analizar su efecto. En una serie combinada con familias estadounidenses y del norte de Europa, observamos la escasa transmisión del haplotipo *DQA1*0101-DQB1*0503* a hijos con diabetes. En una serie de familiares de pacientes identificados a través del estudio DPT-1 (Diabetes Prevention Trial), observamos que la presencia del haplotipo *DQA1*0201/DQB1*0303* (en ligamiento con *DR7*) protegía frente a la DM1.

Los mecanismos fisiopatogénicos de la influencia del HLA sobre el desarrollo de DM1 se basan en la participación de las

moléculas HLA en la presentación de antígenos a las células T. La autoinmunidad es resultado de la pérdida o la falta de adquisición de tolerancia a antígenos propios. Las moléculas HLA son críticas en el desarrollo de la tolerancia a antígenos propios, ya que presentan péptidos a las células T. La capacidad presentadora de antígenos de los diversos haplotipos o genotipos HLA es diferente, y esta diversidad puede originar la heterogeneidad en su influencia sobre el desarrollo de DM1. La tolerancia a antígenos propios se adquiere a dos niveles, central y periférico. Para el desarrollo de la tolerancia central, las moléculas HLA deben presentar péptidos propios a células T inmaduras en el timo. Para el desarrollo de la tolerancia periférica, las moléculas HLA deben presentar los antígenos a linfocitos T maduros que no fueron sometidos a selección negativa. Determinados tipos HLA podrían ser ineficaces en una o ambas funciones, lo que dificultaría el desarrollo de tolerancia contra antígenos propios y contribuiría a la aparición de autoinmunidad.

La ineficacia de ciertas moléculas HLA en la presentación de antígenos a las células T parece estar determinada por su estructura conformacional. Esta hipótesis se sustenta en estudios interraciales. Por ejemplo, entre los japoneses, el alelo *DQB1*0401*, normalmente presente en haplotipos *DR4-DQA1*0301-DQB1*0401* está asociado con riesgo de diabetes. Los alelos *DQB1*0401* y *DQB1*0402* son diferentes sólo en un aminoácido. En Noruega, el genotipo *DQA1*0301-DQB1*0302*/*DQA1*0401-DQB1*0402* está asociado con DM1. Una molécula muy parecida podría formarse en japoneses en *cis* (*DR4-DQA1*0301-DQB1*0401*) y en noruegos en *trans* (*DQA1*0301-DQB1*0402*).

La presencia de un ácido aspártico en posición 57 de la cadena beta en la molécula DQ fue propuesta como característica común de tipos HLA asociados con protección frente a DM1, ya que está presente en el haplotipo protector *DQA1*0102-DQB1*0602* y falta en los alelos de riesgo *DQB1*0302* (ligado a *DR4*) y

*DQB1*0201* (ligado a *DR3*). De forma similar, la presencia de arginina en la posición 52 de la cadena alfa de la molécula *DQ* se creyó determinante de susceptibilidad para DM1, ya que está presente en *DQA1*0301-DQB1*0302* y *DQA1*0501-DQB1*0201*. Sin embargo, haplotipos de alto riesgo, como *DQA1*0401-DQB1*0402* y alelos como *DQA1*0301* y *DQB1*0401* tienen un ácido aspártico en la posición 57 de la cadena beta de la molécula *DQ*, así como los alelos de riesgo moderado *DQB1*0301* y *DQB1*0303*.

El complejo mayor de histocompatibilidad relacionado con la cadena de clase I (*major histocompatibility complex class I chain-related*, MICA) está localizado en el brazo corto del cromosoma 6, dentro de la región HLA, pero codifica moléculas diferentes de *DQ* y *DR*. En esta región, se han descrito dos polimorfismos (uno con 6 repeticiones GCT-AGC, llamado A6, y otro con cuatro, llamado A4) que están asociados, respectivamente, con reducción o aumento del riesgo de DM1.

Moléculas de clase I dentro de la región HLA podrían también ser responsables de la influencia de genes HLA sobre el riesgo de DM1. Debido a que los llamados haplotipos «extendidos», como el haplotipo *A1-B8-DR3-DQ2*, están muy conservados, es difícil determinar a cuál de los alelos se debe el efecto sobre el riesgo de DM1.

«IDDM2»: gen de la insulina

El locus IDDM2 incluye un número variable de repeticiones en tándem (*variable number of tandem repeats*, VNTR) en el cromosoma 11p15, en el minisatélite 5' del gen de la insulina. Los polimorfismos en esta región no codificante del gen de la insulina están asociados con riesgo de DM1. Hay tres tipos principales de VNTR de insulina, definidos por su tamaño: clase I (26-63 repeticiones), clase II (aproximadamente 80 repeticiones) y clase III (140-200 repeticiones). Cada una de estas clases puede subdividirse según el número de repeticiones y la secuencia.

Los individuos homocigotos para alelos VNTR de clase I tienen mayor riesgo de DM1, mientras que los alelos VNTR de clase III confieren protección dominante.

Estos polimorfismos influyen en la cantidad de ARN mensajero de insulina detectable en el timo, lo que podría constituir la base fisiopatogénica de su influencia sobre el riesgo de DM1. Hanahan et al. describieron la presencia de «células periféricas que expresan antígenos» en el timo. Los alelos VNTR de clase III están asociados con mayor expresión de ARN mensajero de insulina en el timo, y la transcripción de insulina en el timo se correlaciona de forma inversa con susceptibilidad para diabetes autoinmune, tanto en humanos como en modelos animales transgénicos. Así pues, concentraciones altas de insulina en el timo (determinadas por alelos VNTR de clase III) podrían conducir a selección negativa (destrucción) de células T autorreactivas con un receptor de células T dirigido contra antígenos propios, lo que llevaría, por tanto, al desarrollo de tolerancia. Una explicación alternativa sería que la expresión alta de insulina en el timo favorecería la aparición de células T reguladoras que responden a péptidos de insulina. El *locus* IDDM2 muestra un efecto llamado «padre de origen» según el cual los alelos protectores lo son cuando son heredados del padre, pero no cuando se heredan de la madre.

«IDDM3» hasta «IDDM18»

Se han definido casi 20 *loci* asociados a DM1, pero muchos de ellos no han podido confirmarse fuera de la población en la que fueron descritos. A continuación, describimos aquellos en los que se ha encontrado un gen candidato.

IDDM4 (*D11S987*), localizado en el cromosoma *11q13*, donde se encuentra el gen de la proteína 5 relacionada con el receptor de la lipoproteína de baja densidad (*LRP5*).

En el intervalo de IDDM5 (*D6S311* y *6S440*), en el cromosoma *6q25*, en el gen *SUMO4* (que codifica una proteína pequeña modificadora semejante a la ubiquitina, *small ubiquitin-like modifier 4 protein*, *SUMO4*), se ha descrito recientemente un polimorfismo que produce un incremento en la actividad de transcripción NF kappa B y la expresión de *IL12B*.

IDDM9 (*D3S1267*), en el cromosoma *3q13*, donde se encuentra el gen de las moléculas *CD80* y *CD86*, piezas clave en la coestimulación.

El gen candidato en el *locus* IDDM12 es el antígeno asociado a los linfocitos T citotóxicos (*cytotoxic T lymphocyte antigen 4*, *CTLA-4*), en el cromosoma *2q33*, que codifica un receptor que se expresa en las células T activadas, se une a las moléculas *B7* y limita la respuesta proliferativa de las células T activadas, algunas de las cuales podrían ser autorreactivas. Los polimorfismos en el gen del receptor *CTLA-4* se han asociado con diversos componentes del síndrome poliglandular autoinmune tipo 2. Su efecto es muy fuerte en tres poblaciones europeas mediterráneas (española, italiana y francesa), la población mexicanoamericana y la población coreana. Sin embargo, en poblaciones caucásicas de América del Norte, en el Reino Unido, Cerdeña, China y Dinamarca, el efecto es más débil o inexistente. Las múltiples variaciones descritas entre poblaciones limitan la utilidad de este *locus*.

IDDM17, *D10S554*, se localiza en el brazo largo del cromosoma 10 (*10q25*), cuando se hereda junto con HLA *DR3* o *DR4* confiere un riesgo de diabetes del 40% en los miembros de una familia árabe beduina.

El *locus* IDDM18 se localiza cerca del gen que codifica la subunidad *p40* de la interleucina 12 (IL-12).

Un alelo de un polimorfismo de un solo nucleótido (*single nucleotide polymorphism*, SNP) en el receptor de la interleucina 1 tipo 1A (IL1R1), causante de concentraciones plasmáticas bajas de este receptor, se ha asociado DM1. Asimismo, polimorfismos en el promotor del gen de la proteína 5 relacionada con el receptor de la lipoproteína de baja densidad (que se expresan en células del sistema mononuclear-fagocítico, los islotes de Langerhans, las células que metabolizan vitamina A y las neuronas del sistema nervioso central) se han asociado también con DM1. Los polimorfismos en el receptor de la vitamina D podrían estar asociados a DM1. Algunos investigadores han descrito recientemente la asociación entre DM1 y un polimorfismo de un solo nucleótido en el gen que codifica la tirosina fosfatasa de la proteína linfóide (LYP, *lymphoid protein tyrosine phosphatase*), un supresor de la activación de las células T. La variante asociada con DM1 cambia un residuo aminoácido crucial, implicado en la asociación del gen LYP con la cinasa reguladora negativa (*negative regulatory kinase*, Csk).

Entre los estudios sobre la genética de la DM1 que están en marcha en la actualidad, queremos destacar el Consorcio Internacional de Genética de la Diabetes Tipo 1 (T1DGC), del que forma parte la Red Europea de Genética de la Diabetes Tipo 1, formada por más de 100 centros (6 de ellos españoles) en 28 países.

Marcadores inmunológicos: autoanticuerpos antislote

La presencia de autoanticuerpos circulantes en pacientes con DM1 se conoce desde hace unos 30 años. Los autoanticuerpos son consecuencia de la destrucción autoinmune de los islotes en el páncreas, y son detectables en sangre un tiempo variable antes del diagnóstico de diabetes, por lo que se han empleado como marcadores pronóstico o de riesgo. Tras el diagnóstico de la enfermedad y con el tiempo, los niveles de autoanticuerpos tienden a disminuir. Al cabo de muchos años, con frecuen-

cia son negativos, lo que refleja la destrucción total de los islotes. Los anticuerpos que se emplean en la actualidad son contra las células de los islotes (ICA), contra la molécula de insulina, contra la decarboxilasa del ácido glutámico (GAD65) y contra la proteína 2 asociada con el insulinoma (IA-2/ICA512 y IA-2beta). Otros autoanticuerpos asociados con la DM1, como los anticuerpos antigangliósidos o los anticuerpos anti-GAD67, parecen de utilidad limitada.

Entre el 85 y el 90% de los pacientes son positivos para uno o más autoanticuerpos antislotes en el momento del diagnóstico. El porcentaje de pacientes en los que no se detectan autoanticuerpos antislotes en el momento del diagnóstico es mayor en razas no caucásicas. La ausencia de autoanticuerpos detectables en un 10-15% de los pacientes recién diagnosticados de DM1 puede ser debida a la ausencia real de tales marcadores o, con mayor probabilidad, a la presencia de autoanticuerpos que desconocemos y no son reconocidos por los métodos analíticos actuales. A medida que estos mejoren, disminuirá el porcentaje de pacientes que son negativos y, por tanto, incrementará la utilidad de los autoanticuerpos usados en el diagnóstico y predicción. El límite superior de los niveles normales de autoanticuerpos, a partir del cual se consideran positivos, se suele definir como el percentil 99 en un grupo de individuos controles (sanos y sin familiares en primer grado con DM1). Por lo tanto, por definición, un 1% de individuos de la población general (sana) es positiva para autoanticuerpos.

Los autoanticuerpos antinsulina son los más prevalentes en el momento del diagnóstico en niños de corta edad. Los autoanticuerpos anti-GAD65 y los ICA son los más frecuentes en pacientes diagnosticados de LADA; en estos pacientes, los anticuerpos ICA suelen desaparecer en una o dos décadas tras el diagnóstico, mientras que los anti-GAD65 pueden permanecer positivos mucho más tiempo.

El número de autoanticuerpos positivos es, en la actualidad, el factor más importante en la estimación del riesgo de diabetes. Los familiares en primer grado de un paciente y que son positivos para los tres autoanticuerpos bioquímicos (GAD65, IA2/ICA512 e insulina) tienen un riesgo de diabetes cercano al 100% en los siguientes cinco años. El significado del nivel (título) de los autoanticuerpos es motivo de debate. Los autoanticuerpos positivos a títulos muy bajos, especialmente si no se acompañan de positividad para otros autoanticuerpos, se negativizan con relativa frecuencia (*positivos transitorios*). No se ha demostrado que los títulos muy altos de autoanticuerpos conlleven un riesgo de diabetes especialmente elevado.

El riesgo o protección frente a la DM1 asociada con alelos HLA parece ser mediada por la influencia de HLA sobre el desarrollo de autoanticuerpos antislotes. Los individuos portadores de los haplotipos *DR4-DQA1*0301-DQB1*0302* o *DR3-DQA1*0501-DQB1*0201* tienen mayor riesgo de desarrollar autoanticuerpos antislotes pero, una vez que estos aparecen, la progresión a DM1 no es más rápida ni más probable que en individuos portadores de otros haplotipos.

Marcadores metabólicos: disminución de la función de las células beta

El péptido C se segrega junto a la molécula de insulina, por lo que se considera un marcador de secreción endógena de insulina. Las concentraciones plasmáticas de péptido C están incrementadas en la DM2, caracterizada por la resistencia a insulina, mientras que en la DM1, caracterizada por un déficit de insulina, están disminuidas. El péptido C se ha utilizado para ayudar en el diagnóstico diferencial de ambas entidades y también para estimar la pérdida de función de las células beta pancreáticas en individuos con «prediabetes». Las concentraciones plasmáticas de péptido C se pueden medir en situación basal o tras estímulo con una comida mixta líquida o con glucagón. La

utilidad práctica de la medición del péptido C, ya sea basal o estimulado, está limitada por la superposición en las distribuciones de los niveles de péptido C en pacientes y controles (especialmente en niños, en pacientes con DM1 en periodo de remisión «luna de miel» y en pacientes con DM2 con hiperglucemia marcada), por las variaciones debidas a las diferencias en la absorción de la comida mixta, por el tiempo que requiere su realización (entre 2 y 4 horas) y por las náuseas que se presentan como efecto secundario. A pesar de estas limitaciones, recientemente se ha descrito que el mantenimiento de la capacidad de producción de péptido C en individuos con otros marcadores de riesgo podría predecir la ausencia de progresión a DM1.

Otra forma de medir la reserva de la célula beta es la medida de la primera fase de secreción de insulina en un test de tolerancia a la glucosa intravenosa o tras estimulación con arginina intravenosa. Esta última prueba puede realizarse en sólo unos minutos, no depende de la variación en la absorción gastrointestinal y se tolera bien clínicamente. Por otra parte, las respuestas a la arginina persisten después del diagnóstico de diabetes, cuando la capacidad de responder a glucosa ha desaparecido, lo que es útil en estudios con pacientes recién diagnosticados.

Nota final

La existencia de un proceso previo a la manifestación clínica de la enfermedad es la base del concepto de que es posible predecir y prevenir la aparición de DM1. En la actualidad, se emplean marcadores genéticos, inmunológicos y metabólicos para seleccionar a individuos como potenciales candidatos para estudios encaminados a descubrir nuevas estrategias preventivas. Los posibles efectos secundarios de los fármacos empleados y el coste de los estudios obligan a seleccionar cuidadosamente a

individuos cuyo riesgo de desarrollar DM1 justifique su participación en el estudio. Con el reciente impulso que ha recibido el trasplante de islotes, es necesario identificar marcadores de riesgo de recidiva de la diabetes autoinmune tras el trasplante. Ciertos tipos HLA, la positividad para autoanticuerpos antislotes antes del trasplante y la pérdida progresiva de la función de las células beta son los marcadores más empleados en la actualidad.

Bibliografía

Aguilera E, Casamitjana R, Ercilla G, Oriola J, Gomis R, Conget I. Adult-onset atypical (type 1) diabetes: additional insights and differences with type 1A diabetes in a European Mediterranean population. *Diabetes Care*. 2004; 27(5): 1.108-1.114.

Atkinson MA, Maclaren NK. The pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1994; 331(21): 1.428-1.436.

Bertera S, Alexander A, Giannoukakis N, Robbins PD, Trucco M. Immunology of type 1 diabetes. Intervention and prevention strategies. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 1999; 28(4): 841-864.

Bilbao JR, Martin-Pagola A, Calvo B, Pérez de Nanclares G, Gepv-N, Castano L. Contribution of MIC-A polymorphism to type 1 diabetes mellitus in Basques. *Ann N Y Acad Sci*. 2002; 958: 321-324.

Bosi E, Todd I, Pujol-Borrell R, Bottazzo GF. Mechanisms of autoimmunity: relevance to the pathogenesis of type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetes Metab Rev*. 1987; 3(4): 893-923.

Eisenbarth GS. Type I diabetes mellitus. A chronic autoimmune disease. *N Engl J Med*. 1986; 314(21): 1.360-1.368.

Gale EA. Can we change the course of beta-cell destruction in type 1 diabetes? *N Engl J Med*. 2002; 346(22): 1.740-1.742.

Lernmark A. Series Introduction: Autoimmune diseases: are markers ready for prediction? *J Clin Invest*. 2001; 108: 1.091-1.096.

Marron MP, Raffel LJ, Garchon HJ, Jacob CO, Serrano-Ríos M, Martínez Larrad MT, Teng WP, Park Y, Zhang ZX, Goldstein DR, Tao YW, Beaurain

G, Bach JF, Huang HS, Luo DF, Zeidler A, Rotter JI, Yang MC, Modilevsky T, Maclaren NK, She JX. Insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) is associated with CTLA4 polymorphisms in multiple ethnic groups. *Hum Mol Genet.* 1997; 6(8): 1.275-1.282.

Nepom GT, Kwok WW. Molecular basis for HLA-DQ associations with IDDM. *Diabetes.* 1998; 47(8): 1.177-1.184.

Pociot F, Karlsen AE, Pedersen CB, Aalund M, Nerup J; European Consortium for IDDM Genome Studies. Novel analytical methods applied to type 1 diabetes genome-scan data. *Am J Hum Genet.* 2004; 74(4): 647-660.

Redondo MJ, Eisenbarth GS. Genetic control of autoimmunity in Type I diabetes and associated disorders. *Diabetologia.* 2002; 45(5): 605-622.

Vendrame F, Gottlieb PA. Prediabetes: prediction and prevention trials. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2004; 33(1): 75-92, ix.

Vicario JL, Martínez-Laso J, Corell A, Martín-Villa JM, Morales P, Lledó G, Segurado OG, de Juan D, Arnaiz-Villena A. Comparison between HLA-DRB and DQ DNA sequences and classic serological markers as type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus predictive risk markers in the Spanish population. *Diabetologia.* 1992; 35(5): 475-481.

Wucherpennig KW, Eisenbarth GS. Type 1 diabetes. *Nat Immunol.* 2001; 2(9): 767-768.

La diabetes tipo 1 como enfermedad mediada por células T. **De los modelos animales al ser humano**

J. Verdaguer, M.^ªC. Puertas

Los modelos animales, y en especial los modelos murinos, han sido en el pasado y son en la actualidad herramientas indispensables para el estudio de los mecanismos fisiológicos y fisiopatológicos que acontecen en el ser humano. Su importancia queda patente en el importante número de nuevos conocimientos que se han alcanzado en la mayoría de los ámbitos de la biomedicina, gracias al trabajo realizado con estos modelos. Hoy en día, el número de modelos animales existente sobre prácticamente cualquier patología humana es impresionante, en especial desde la introducción de las técnicas de transgénesis y mutación genética dirigida. Si damos un vistazo a la página web de los laboratorios Jackson (Bar Harbor, Maine, EE.UU.), nos damos cuenta de la importancia que han alcanzado los modelos murinos en los distintos ámbitos de la biomedicina. En el ámbito de la autoinmunidad, existe un gran número de modelos que no sólo muestran características fisiopatológicas comunes con las distintas enfermedades humanas, sino que en muchos casos comparten una predisposición genética en la que coinciden los mismos genes de susceptibilidad a padecer la enfermedad en ambas especies.

Sin embargo, y como su nombre indica, los modelos animales no dejan de ser «modelos» de enfermedades, y por ello, a pesar del gran número de semejanzas, debemos recordar que existen también un gran número de diferencias, consecuencia inevitable de la separación evolutiva entre especies. Por ello, debemos valorar siempre los resultados procedentes de estudios con modelos animales dentro de su contexto, evitando llegar a conclusiones precipitadas.

La presente revisión tiene como objetivo sintetizar los conocimientos actuales sobre la etiopatogenia de la diabetes mellitus tipo 1 en los modelos animales de la enfermedad, con especial atención al ratón NOD (Non-Obese Diabetic), actualmente el modelo mejor estudiado de la enfermedad.

Modelos animales de diabetes tipo 1

La diabetes tipo 1 (DM1) es una enfermedad de origen autoinmunitario caracterizada por la destrucción selectiva de las células beta pancreáticas, que son las responsables de la producción de insulina. Existe un primer periodo subclínico, que puede durar meses e incluso varios años, durante el cual se desarrolla la respuesta autoinmunitaria y se inicia el proceso de infiltrado leucocitario en los islotes pancreáticos, denominado insulitis, y la destrucción progresiva de la masa celular beta. El debut clínico de la enfermedad, cuando ha desaparecido más del 80% de las células productoras de insulina, se caracteriza principalmente por la incapacidad de controlar los niveles adecuados de glucosa en sangre, lo que provoca hiperglucemia.

Los estudios poblacionales han demostrado que la susceptibilidad individual a la DM1, como ocurre en otras enfermedades autoinmunitarias, tiene un origen multifactorial, en el que intervienen tanto factores genéticos como factores ambientales (infecciones víricas, dieta, temperatura, etc.). Sin embargo, la larga

etapa de desarrollo subclínico de la enfermedad y la inaccesibilidad anatómica del páncreas dificultan el avance del estudio etio-patogénico de la enfermedad, que precisa el análisis en muestras de pacientes. Por esta razón, la investigación básica en la DM1 se ha desarrollado basándose en modelos animales que reflejan, con mayor o menor similitud, la patología que se presenta en humanos, para poder así estudiarla en profundidad.

Los modelos animales han sido de gran utilidad en el conocimiento de la diabetes. Ya en los años veinte algunos estudios realizados por los canadienses F.G. Banting y C. Best con perros pancreatectomizados permitieron el descubrimiento de la insulina como factor clave en la diabetes, lo cual les mereció el premio Nobel de Medicina en 1923. Hasta los años cincuenta, la utilización de modelos de diabetes «inducida» mediante métodos quirúrgicos (en perros, cerdos, conejos y ratas) fueron fundamentales para el avance del conocimiento anatómico y fisiológico del páncreas endocrino.

Más adelante, en los años sesenta, se desarrollaron técnicas de inducción de hiperglucemia mediante tratamientos con toxinas selectivas como la estreptozotocina. La administración de una dosis elevada de estreptozotocina en roedores produce una destrucción de las células beta pancreáticas mediada por un efecto tóxico directo. No obstante, cuando se administran pequeñas dosis consecutivas se observa también infiltrado leucocitario en los islotes, lo que ha sido objeto de estudio de las posibles vías de inducción de muerte celular en las células beta pancreáticas.

Todos estos modelos han sido fundamentales en el estudio de la hiperglucemia y sus complicaciones secundarias, así como en el desarrollo de nuevos tratamientos farmacológicos. De hecho, los modelos de diabetes inducida con estreptozotocina en rata fueron la base para el desarrollo de los transplantes de is-

lotes. Sin embargo, este modelo no puede ser considerado como un reflejo de DM1, y por ello un modelo para el estudio etiológico de la enfermedad, básicamente porque no existe una respuesta autoinmunitaria.

A principios de los años ochenta, diferentes grupos de investigadores, con el objetivo común de obtener un modelo espontáneo de DM1, derivaron líneas de roedores consanguíneas, seleccionando a los individuos hiperglucémicos. De esta forma se generó, por un lado, la cepa de ratón NOD (Non-Obese Diabetic) y por otro la rata BB (BioBreeding). A partir de entonces, estos dos modelos, en especial el ratón NOD, han sido la base para el estudio de la etiopatogenia de la diabetes autoinmunitaria.

El ratón NOD.

Variantes transgénicas y «Knockouts»

La cepa murina NOD ha sido el modelo animal más ampliamente utilizado en el estudio de la DM1 desde que fue descrito en 1980, ya que desarrolla insulinitis y diabetes de forma espontánea, con una patología similar a la que se observa en humanos (presencia de células T CD4+ y CD8+ autorreactivas, autoanticuerpos antislote). De hecho, estos animales desarrollan, a su vez, otros síndromes autoinmunitarios dirigidos contra otros órganos (como glándulas salivales, tiroides, sistema nervioso y próstata), lo que refleja, al igual que en el caso de algunos pacientes con DM1, un fallo sistémico en la tolerancia/regulación del sistema inmunitario.

En estos animales el infiltrado leucocitario comienza a invadir los islotes pancreáticos a partir de las 3-5 semanas de edad, pero los efectos clínicos de la enfermedad (hiperglucemia) se manifiestan entre las 12 y las 30 semanas. Aun siendo una cepa congénita, en la que todos los individuos son genéticamente iguales y todos desarrollan insulinitis, no todos acaban presentando diabetes; de hecho, sólo aproximadamente el 60-90% de

las hembras y un 10-40% de los machos alcanzan este estadio. Esta circunstancia refleja la importancia de los factores ambientales y estocásticos en la aparición final de la diabetes, añadidos a la susceptibilidad genética. De hecho, la incidencia más alta de la enfermedad se observa cuando los ratones NOD se mantienen en ambientes microbiológicos controlados (Specific pathogen free conditions) y son alimentados con dietas ricas en fibras vegetales. Por otro lado, entre los factores aleatorios podemos destacar los niveles hormonales y el estado madurativo del propio sistema inmunitario.

Este modelo animal de diabetes autoinmunitaria espontánea ha sido, y sigue siendo, fundamental en la investigación sobre la DM1 desde distintos puntos de vista: identificación de los loci génicos que confieren resistencia/susceptibilidad a la diabetes, factores endógenos y ambientales que modulan la aparición de la enfermedad, análisis de los mecanismos inmunológicos implicados en la respuesta autoinmunitaria contra las células beta, autoantígenos contra los que se dirigen, etc.

Los estudios de susceptibilidad genética ligada al desarrollo de la DM1 en el modelo NOD (mediante la comparación con cepas que no desarrollan diabetes o a través de manipulación génica para la obtención de líneas con variaciones en un sólo loci) han revelado importantes similitudes con los resultados de estudios en humanos. El principal locus de susceptibilidad a la diabetes, el *Idd1*, se encuentra en los genes que codifican para las moléculas del MHC (Major Histocompatibility Class): la presencia de un aminoácido serina en la posición 57 de la cadena I-A β en el ratón, así como en la cadena DQ β en humanos, origina un alelo que confiere susceptibilidad a la diabetes, mientras que un aminoácido aspártico en esta posición confiere resistencia. Esta homología estructural entre los alelos de susceptibilidad correspondientes a las moléculas de MHC de clase II, IDDM1 en humanos (DQ8) e *Idd1* en ratón (I-A^{g7}) sugiere simili-

tudes en los procesos de presentación antigénica en la DM1. A pesar de que la presencia de este alelo se ha demostrado esencial, no es suficiente en sí misma para el desarrollo de la diabetes. Existen otros loci de susceptibilidad que se asocian con genes relacionados con la homeostasis de la respuesta inmunitaria, mecanismos de tolerancia o inmunorregulación, e incluso con la fisiología de la propia célula beta pancreática. Se han descrito una veintena de Idds en ratón, aunque no se ha encontrado un análogo en humanos para todos ellos, y sólo una combinación adecuada, o «desafortunada», de varios de ellos llevarían al desarrollo de la respuesta autoinmunitaria. Dentro de estos otros loci se ha observado una clara asociación del locus Idd5.1 y del gen de CTLA4, y una posible asociación entre los genes de NRAMP1 y de IL-2 o IL-21 con los loci Idd5.2 e Idd3, respectivamente.

Asimismo, los ratones NOD han sido objeto de numerosos estudios en la búsqueda de posibles terapias preventivas y/o terapéuticas, en especial mediante el uso de agentes inmunomoduladores. La ventaja de este modelo es que se conoce perfectamente en qué momento se inicia la respuesta autoinmunitaria, y que se dispone de una amplia ventana de tiempo durante la cual la insulinitis se desarrolla de forma subclínica. Esto permite estandarizar en qué momento se debe comenzar una terapia preventiva para que sea efectiva. De hecho, se han publicado casi 200 terapias supuestamente capaces de prevenir o retrasar la aparición de DM1 en NOD, muchas de ellas mediante la administración de agentes inmunomoduladores a partir de las 4-6 semanas de edad. Desafortunadamente, muy pocas de ellas son aplicables y eficaces en humanos.

La rata BB

La rata BB (BioBreeding Diabetes-Prone Rat) fue originada en 1983 mediante la selección de hiperglucemia en una colonia de ratas Wistar. A diferencia de la cepa NOD, la incidencia de dia-

betes es similar en machos y hembras (lo cual es más parecido a lo que ocurre en humanos) y puede llegar a ser mayor de un 90% si los animales son estabulados en condiciones libres de patógenos. La diabetes clínica en estos animales se presenta a las 10-16 semanas de vida, pero la fase preclínica de insulinitis es de sólo dos semanas.

También en este modelo se ha estudiado la susceptibilidad genética a la DM1, habiéndose descrito hasta el momento 5 loci de susceptibilidad (iddm). Una vez más, la región génica donde se encuentran los genes del MHC está estrechamente ligada con la susceptibilidad a la enfermedad (iddm2). Sin embargo, una peculiaridad de la rata BB tiene su origen en el iddm1, en el que se encuentra el locus *lyp*, y que es indispensable para el desarrollo de la diabetes en este modelo. La cepa BB es homocigota para la mutación *lyp*, que origina una acusada linfopenia caracterizada por una importante reducción en el número de linfocitos T CD4+ en periferia y casi la total desaparición de linfocitos T CD8+. Aun así, estos animales desarrollan DM1 mediada por linfocitos T CD4+ y CD8+. Se ha descrito que la mutación *lyp* provoca un importante incremento en la tasa de apoptosis de los linfocitos T maduros, que deberían salir del timo y de linfocitos T activados. Parece ser que los pocos linfocitos T memoria que quedan circulantes sólo son rescatados de la apoptosis si son estimulados vía antígeno; consecuentemente, el encuentro con autoantígenos podría dar lugar a una hiperexpansión de linfocitos T autorreactivos. Paralelamente, otros defectos en el timo, y en otras poblaciones celulares como las células dendríticas, las células T reguladoras y las células NK, contribuyen también a la aparición de fallos de tolerancia central y periférica en este modelo animal.

Otros modelos de DM1

En 1991, se describió el modelo de rata LETL (Long Evans Tokushima Lean), también como resultado de la selección de una

línea de animales diabéticos. Estos animales tienen la ventaja de presentar DM1 de forma espontánea, sin sesgo de género, y sin que sea imprescindible que presenten linfopenia. También en este caso se presenta un componente genético poligénico, habiéndose descrito la contribución del haplotipo de MHC, que es el mismo que el de la rata BB.

Recientemente, en 2001, se describió el modelo de rata LEW.1AR1/Ztm-iddm. Aunque aproximadamente sólo un 20% de los animales de esta cepa desarrolla diabetes, cabe subrayar que el resto de animales ni tan siquiera desarrollan insulinitis. Además, el infiltrado en los islotes de estos animales está predominantemente formado por células CD8+. Estos dos aspectos son interesantes, dado que ambos se asemejan a lo que ocurre en humanos. De hecho, en humanos no se ha descrito la insulinitis «benigna» que se ha descrito en cepas resistentes o en la fracción de individuos de cepas susceptibles a la diabetes que desarrollan insulinitis, pero que no desemboca en diabetes.

Vale la pena subrayar que, actualmente, también está en vías de desarrollo el estudio de la DM1 en animales domésticos, como perros y gatos, pero ya no únicamente como modelos de experimentación, sino como problema clínico en el ámbito de la veterinaria. La selección de «razas» de perros y gatos con un alto grado de consanguinidad ha significado la aparición y/o incremento de un mayor número de patologías, entre ellas la diabetes con incidencias actuales próximas a la de 1/200 en perros y 1/800 en gatos.

Mecanismos implicados en la respuesta autoinmunitaria en el modelo NOD

Linfocitos T como mediadores de la lesión celular

El ratón NOD presenta varias «peculiaridades» en su sistema inmunitario: se han descrito deficiencias en la capacidad coes-

timuladora de las células presentadoras de antígeno; también se ha observado una disminución en el número y función de las células NK T y células T CD4+/CD25+ con función reguladora, linfopenia en la periferia, así como defectos en la señalización mediada por TCR que repercuten en una disminución en la respuesta por parte de las células T. Este conjunto de factores, además de otros defectos descritos en el timo, son posiblemente los responsables de los fallos en la tolerancia central y periférica en estos animales.

Para conocer con mayor profundidad el papel de los diferentes elementos que participan en la respuesta autoinmunitaria, ha sido de gran utilidad la aplicación de técnicas de transferencia celulares y de ingeniería genética en los modelos animales. En esta línea, se han realizado transferencias de poblaciones celulares, tanto en animales intactos como en animales inmunodeficientes o irradiados. También se han producido ratones NOD transgénicos y knockout para una variedad importante de genes, muchos de ellos codificantes para moléculas implicadas en la respuesta inmunitaria. Todas estas técnicas permiten realizar un estudio detallado del desarrollo de la enfermedad, analizando la contribución de cada elemento de forma individual. Aunque se sabe que los linfocitos T son los mayores efectores de la respuesta autoinmunitaria dirigida contra las células beta, han sido necesarios numerosos estudios en un intento de discernir si este papel era atribuible a los linfocitos T CD4+ o a los CD8+. Numerosos grupos de investigadores han analizado el curso de la enfermedad en animales inmunodeficientes en los que se habían transferido sólo linfocitos T CD4+ o CD8+, y en animales en los que, mediante transferencia o expresión transgénica de TcR autorreactivos, se incrementa la población de linfocitos T diabetogénicos. En este sentido, la transferencia a ratones NOD-SCID de esplenocitos procedentes de ratones NOD prediabéticos sugiere que ambas poblaciones se requie-

ren para el desarrollo de la enfermedad. Por el contrario, otros estudios han demostrado que clones de linfocitos T CD4+ y CD8+ reactivos contra células beta, aislados esta vez de ratones NOD diabéticos, pueden transferir DM1 en ausencia de otras especificidades de linfocitos T CD8+ y CD4+, respectivamente. Por otra parte, se ha observado que ratones NOD deficientes de moléculas MHC de clase I no desarrollan insulitis, mientras que el restablecimiento de estas moléculas en células beta restituye, a su vez, la susceptibilidad a desarrollar insulitis, sugiriendo que la primera agresión contra células beta podría estar mediada por linfocitos T CD8+ citotóxicos. Finalmente, estudios realizados con ratones NOD monoclonales, portadores de linfocitos T con una única especificidad, han demostrado que tanto los linfocitos T CD4+ como CD8+ específicos contra autoantígenos de células beta son capaces de iniciar una insulitis y finalmente producir diabetes por sí solos, aunque en el caso de aquellos portadores de linfocitos T CD8+ la incidencia sería más baja y el curso de la enfermedad más largo. Los ratones NOD monoclonales son ratones portadores de una mutación inactivadora de los genes activadores de la recombinación 2 (RAG2), y por ello incapaces de reordenar receptores de linfocitos B y T (BcR y TcR, respectivamente), y a su vez transgénicos por un TcR altamente diabetogénico; por ello, todos los linfocitos T de estos ratones son portadores del mismo TcR, y tienen la misma especificidad antigénica.

Es posible que el reclutamiento de los linfocitos T CD8+ citotóxicos a los islotes pancreáticos se vea mediado por el reconocimiento de uno o un número limitado de autoantígenos en el contexto de las moléculas de MHC de clase I, H-2K^d. Se ha observado que los linfocitos T CD8+ presentes en el páncreas de ratones NOD prediabéticos y con debut diabético están restringidos usualmente por H-2K^d y tienden a usar secuencias TCR α -CDR3 con una alta homología, lo que

sugiere el reconocimiento en células beta de complejos de H-2K^d/autoantígeno inmunodominantes. Esta restricción por el MHC no se encuentra en linfocitos T CD4⁺ infiltrantes en los islotes, lo que apoya la idea de que su reclutamiento tendría lugar una vez se hubiera producido la liberación masiva de autoantígenos que seguiría a la lesión inicial de las células beta.

Es muy posible que ambas poblaciones de linfocitos T colaboren en el desarrollo de la respuesta autoinmunitaria en los islotes pancreáticos de los animales NOD. Probablemente, en la fase inicial de la enfermedad son los linfocitos T CD8⁺ los que atacarían primero a las células beta (por alguna razón no del todo conocida, pero probablemente relacionada con cambios fisiológicos en las propias células endocrinas tras el inicio de la dieta adulta). En una segunda fase, los autoantígenos liberados en el primer «ataque» podrían ser captados por células presentadoras (APC) y éstas a su vez presentarlos a linfocitos CD4⁺ con actividad citolítica, que serían mayoritarios en la insulitis y responsables de la devastación de la población de células beta pancreáticas. Estos estudios han demostrado que el encuentro de los linfocitos T CD4⁺ con sus antígenos depende de la captación de autoantígenos en los islotes, por parte de las células dendríticas, y de su posterior transporte y presentación en los ganglios linfáticos regionales, a partir de las 2-3 semanas de edad (figura 1).

Se han generado también numerosos modelos animales transgénicos y knockouts, así como terapias basadas en el bloqueo específico de alguna molécula mediante la administración de anticuerpos, con el objetivo de analizar en profundidad la función de diversas moléculas implicadas en la coestimulación de los linfocitos T (B7.1, B7.2, CTLA-4, CD28) en la DM1. Por desgracia, la interpretación de los resultados obtenidos no es sencilla, ya que en ocasiones las mismas vías de activación de los

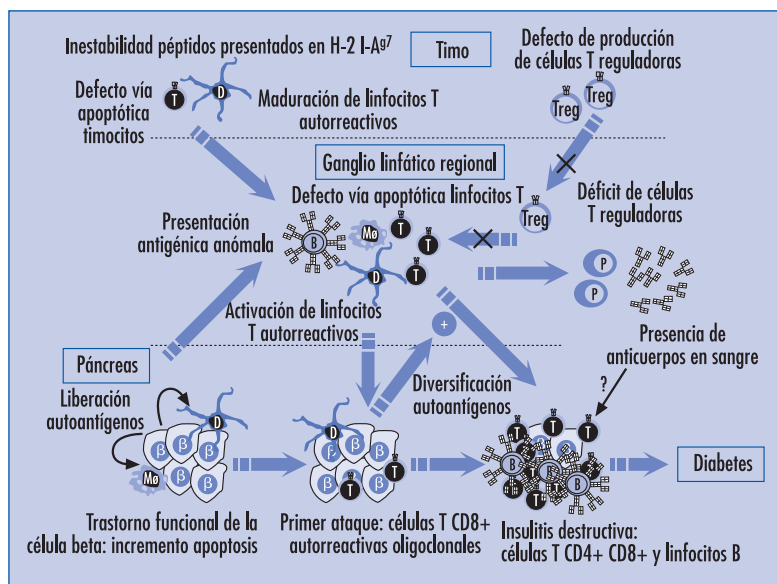


Figura 1. Factores desencadenantes de la respuesta autoinmunitaria en ratones NOD. Esquema de los posibles defectos y alteraciones que contribuyen al inicio y posterior desarrollo de la DM1 en el ratón NOD. Se ha sugerido que la inestabilidad de la presentación peptídica mediante moléculas del MHC del haplotipo *H-2g7* puede contribuir a un defecto en la capacidad de selección negativa en el timo. Esto, añadido al defecto en la vía apoptótica de los timocitos contribuye a que «escapen» del timo linfocitos T con capacidad autorreactiva. También estos defectos tímicos parecen afectar a la maduración de células T con capacidad reguladora (Treg), encontrándose una disminución en periferia. Por su parte, en los islotes pancreáticos, una alteración fisiológica de las propias células beta podría contribuir a la liberación de autoantígenos (aproximadamente 2 semanas de edad), que podrían ser captados y transportados a los ganglios linfáticos regionales mediante células APC. En los ganglios regionales se produciría el primer encuentro entre las APC y los linfocitos T autorreactivos específicos de célula beta. Las anomalías en la presentación, en la vía apoptótica de los linfocitos T y el déficit de células reguladoras pueden contribuir a la activación final de los linfocitos T autorreactivos. En principio, se plantea que sólo unos pocos linfocitos T CD8+ serían activados así y generarían la «primera agresión» contra las células beta. De manera que esta primera agresión contribuiría a la diversificación de autoantígenos insulares liberados, y a su vez a la amplificación de la respuesta autoinmune, favoreciendo la activación y reclutamiento de linfocitos T CD4+ y T CD8+ con capacidad citolítica y linfocitos B. En esta fase, la insulinitis puede avanzar y provocar la destrucción masiva de la masa celular beta, lo que desembocaría en la aparición de diabetes. Se sabe que en los ganglios linfáticos también se activan linfocitos B, algunos de los cuales se derivan a células plasmáticas que secretan autoanticuerpos, detectables en suero, sin embargo se desconoce su función o posibles consecuencias.

T= célula T; Treg= célula T reguladora; B= linfocito B; MΦ= macrófago; D= célula dendrítica; β= célula beta; P= célula plasmática

linfocitos T efectores son también compartidas por poblaciones de linfocitos T reguladoras. De la misma forma, estas técnicas se han utilizado también en el estudio de citocinas y quimiocinas potencialmente implicadas en la activación/supresión de la respuesta autoinmunitaria (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, TGF- β , TNF- α , IFN- γ , ICAM-1, MIP-1 α). La información obtenida en estos estudios ha sido en ocasiones contradictoria, y a menudo no es concluyente. En otros casos el efecto observado en un animal deficiente para un determinado elemento no ha sido el contrario al que se había observado al hiperexpresar el mismo gen de forma transgénica, como cabría esperar. Este efecto es debido a que, a menudo, los mecanismos implicados en la respuesta inmunitaria son redundantes y, cuando uno de ellos falla, otro puede actuar en su lugar, enmascarando así su defecto. Tampoco hay que olvidar que algunas citocinas pueden tener efectos diferentes si son expresadas sistémicamente o a nivel local.

Función de las células presentadoras de antígeno en la iniciación de la DM1

A pesar de que los linfocitos T son los mayores efectores de la lesión sobre las células beta, la colaboración de otras células del sistema inmunitario es necesaria para la iniciación y posterior desarrollo de la enfermedad. Entre estas células destacan las células dendríticas, los macrófagos y los linfocitos B, que comparten la función común de presentar antígenos en el contexto del MHC, es decir, de actuar como células presentadoras de antígeno (APC) para linfocitos T. Para que los linfocitos T se activen, los antígenos deben ser presentados de forma simultánea con al menos una señal coestimuladora adicional mediante receptores de membrana (p.ej., CD28/B7) y generalmente en presencia de citocinas tales como la IL-2 y la IL-4. Este primer contacto entre las APC y los linfocitos T se produce en los ganglios linfáticos regionales, donde antígenos tisulares y APC «vigilantes» procedentes de los distintos tejidos

del organismo (p.ej., el páncreas) son transferidos por la linfa. En términos generales, las APC presentan antígenos procedentes del catabolismo proteico interno en el contexto de moléculas de MHC de clase I a linfocitos T CD8+. Por el contrario, aquellos antígenos procedentes del espacio extracelular son captados por las APC mediante fagocitosis, endocitosis o pinocitosis, y posteriormente presentados en el contexto de las moléculas de MHC de clase II a linfocitos T CD4+. En algunos casos, antígenos procedentes del espacio intersticial también son presentados por moléculas de clase I, proceso que conocemos como «presentación cruzada». En otros, la presentación cruzada determina tolerancia, es decir una no-respuesta por parte del linfocito T. Sin embargo, en otras situaciones la presentación cruzada de antígenos tiene como resultado la activación linfocitaria. Esta dualidad funcional vendría determinada por variables como la dosis de antígeno, el lugar y momento de la presentación, la presencia de otras células auxiliares o citocinas en el medio, y en particular el estado de activación de la propia APC. Se ha postulado que la presentación cruzada de antígenos podría estar implicada en la iniciación de los procesos autoinmunitarios.

Actualmente, en la DM1 se desconoce cómo y cuándo se activan los linfocitos T preclínicos, y tampoco se sabe qué APC están implicadas en esta activación. Distintos estudios han demostrado que los tres tipos de células presentadoras (células dendríticas, macrófagos y linfocitos B) podrían estar implicadas en la presentación de autoantígenos y que, dependiendo del estado de activación de dicha APC y del contexto en que tenga lugar la presentación antigénica, el resultado sería activación o, por el contrario, la supresión de linfocitos T autorreactivos.

Las células dendríticas capturan preferentemente antígenos solubles, aunque también captan antígenos mediante fagocito-

sis. Su única función conocida es la de actuar como APC. Las células dendríticas inmaduras se encuentran normalmente en superficies epiteliales y en la mayoría de órganos sólidos. Durante este periodo tienen la máxima capacidad para capturar antígenos, aunque una mínima capacidad de activar linfocitos T dada la poca expresión de moléculas de MHC de clase I y II, y la nula expresión de moléculas coestimuladoras. En este estado, las células dendríticas tendrían actividad supresora de la respuesta de los linfocitos T, contribuyendo al establecimiento de la tolerancia tanto central como periférica. Por el contrario, una vez se capturan antígenos «extraños», se produce la activación de la célula, conllevando una alta expresión de moléculas de MHC y de moléculas coestimuladoras (p.ej., B7), y su migración a los ganglios linfáticos regionales, transformándose así en las APC con la capacidad estimuladora más potente para linfocitos T vírgenes (*naive*).

Se ha sugerido que las células dendríticas de ratones NOD tendrían defectos de maduración y de transcripción del factor NF-kappaB, lo que conllevaría una activación anormal de la célula y, en último término, el desarrollo de una respuesta inmunitaria patogénica.

Estudios realizados en ratones NOD han demostrado que antes de que se inicie la insulitis ya existen células dendríticas en los islotes pancreáticos. Por otra parte, otros estudios sugieren que serían estas células dendríticas presentes en las fases previas a la insulitis las responsables del proceso autoinmunitario. Así, tras la captación antigénica y su posterior activación, las células dendríticas migrarían a los ganglios linfáticos regionales, donde activarían a los linfocitos T autorreactivos específicos de célula beta. Una vez activados, estos linfocitos T proliferarían y posteriormente migrarían al páncreas, donde iniciarían el proceso lítico de las células beta. Con la destrucción de las primeras células beta se pro-

duciría la liberación de nuevos autoantígenos, que serían captados por nuevas células dendríticas y otras APC, las cuales, tras su migración a los ganglios regionales, iniciarían la activación de nuevos linfocitos T autorreactivos. Estos linfocitos T activados migrarían a su vez al páncreas, donde actuarían destruyendo un mayor número de células beta, con una nueva liberación de autoantígenos, cerrándose así un círculo que en último término sólo finalizaría con la destrucción de todas las células beta.

Los macrófagos también aparecen en los islotes pancreáticos antes del infiltrado de linfocitos T. Los macrófagos se caracterizan por su capacidad fagocítica casi ilimitada, incluyendo complejos moleculares como bacterias, fragmentos celulares, células necróticas y apoptóticas. Con esta actuación, los macrófagos retiran de los tejidos todo aquello que pueda lesionar al organismo. Aunque el papel de los macrófagos en la DM1 parece estar más relacionado con esta función limpiadora que con su función presentadora de antígenos, no se puede descartar un defecto en la presentación antigénica que conlleve a la respuesta autoinmunitaria. De hecho, en ratones NOD se ha descrito un defecto en la función y maduración de los macrófagos. Además, algunos estudios han señalado que los macrófagos son necesarios para el desarrollo y activación de linfocitos T citotóxicos con reactividad contra células beta, y que, en ratones NOD, la enfermedad puede prevenirse mediante la transferencia de macrófagos tímicos alogénicos, a través de un mecanismo aún no determinado.

Los linfocitos B como células presentadoras de antígeno y como células productoras de autoanticuerpos en la DM1 de ratones NOD

Se ha demostrado que los linfocitos B tienen una función crítica en el desarrollo de la DM1. Así, la depleción de esta población celular en ratones salvajes (*wild-type*) NOD o la ausencia

congénita de la misma en NOD.Igμ^{null}, acaba en una resistencia y/o retraso en la edad de debut de la enfermedad. A pesar de que no se conocen con certeza los mecanismos por los cuales los linfocitos B contribuirían al desarrollo de la diabetes, se ha propuesto que lo harían mediante su función presentadora de antígeno, es decir que linfocitos B autorreactivos podrían capturar, mediante las inmunoglobulinas de membrana, autoantígenos de células beta y, posteriormente, presentarlos a linfocitos T autorreactivos a nivel de los ganglios linfáticos regionales. Además, se sabe que los linfocitos B, al igual que sus homólogos los linfocitos T, migran a los islotes pancreáticos durante el desarrollo de la DM1, lo que sugiere una función clave *in situ*.

Por otra parte, varios trabajos apoyan la idea de que los propios autoanticuerpos también podrían contribuir al desarrollo de la DM1. En ratones NOD, al igual que en los humanos, el desarrollo de DM1 está asociado a la presencia de autoanticuerpos circulantes contra distintos autoantígenos de células beta, especialmente contra insulina. Además, en ratones NOD, se ha demostrado que la transferencia vía placentaria de autoanticuerpos reactivos contra autoantígenos de células beta contribuye a la progresión de la diabetes en la prole.

Autoantígenos de células beta reconocidos en la DM1 del ratón NOD

Un punto clave para la comprensión del ataque autoinmunitario es la búsqueda del o los autoantígenos contra los que se dirige dicha agresión. En este sentido, se sabe que durante la evolución de la enfermedad se produce una expansión en la diversidad de linfocitos T autorreactivos. Esto es debido a que la misma destrucción de las células beta libera nuevos autoantígenos que pueden ser diana de la respuesta autoinmunitaria (efecto conocido como «antigenic spreading») y que se refleja también

en la diversificación en los autoanticuerpos detectables en suero. Por esta razón, se han dedicado muchos esfuerzos a buscar los autoantígenos contra los que se dirige la respuesta inicial. De esta manera, varios grupos han aislado clonas de linfocitos T autorreactivos procedentes de insulitis incipientes, y han estudiado su especificidad y su comportamiento cuando su TCR es ampliamente expresado de forma transgénica. Estos estudios indican que el comportamiento de estos linfocitos T autorreactivos depende, en gran medida, de la afinidad de su TCR con el autoantígeno en cuestión, siendo más dependientes de coestímulos aquellos linfocitos cuyo TCR tiene menor afinidad con el autoantígeno.

Se han descrito varios autoantígenos de células beta como posibles dianas iniciales de la respuesta autoinmunitaria de linfocitos T en la DM1. Entre ellos, destacan la insulina (y/o la proinsulina), IA-2 (*insulinoma-associated protein 2*), GAD (*glutamic acid decarboxylase*), HSP-60 (*heat shock protein*), y el recientemente descrito IGRP (*islet-specific glucose-6-phosphatase catalytic subunit-related protein*). En esta respuesta anómala, se han implicado defectos de tolerancia central y periférica. Como ya se ha mencionado, una posible causa del defecto de tolerancia central podría ser la presentación antigénica defectuosa por parte de las APC presentes en el timo, a consecuencia de una inestabilidad de la molécula H-2 IA^{g7} o de un defecto en el procesamiento antigénico. De esta forma, algunos linfocitos T autorreactivos podrían escapar al proceso de selección negativa. Se ha sugerido también que un defecto de los linfocitos T en las vías de apoptosis, tanto dependientes como independientes de Fas, podría estar implicado en el escape a los mecanismos de tolerancia tanto central como periférica.

Nuestro conocimiento sobre el repertorio antigénico de los linfocitos B autorreactivos en la DM1 proviene básica-

mente de estudios de la especificidad antigénica de los autoanticuerpos circulantes reactivos contra islote, pero también del análisis de la especificidad antigénica de hibridomas de linfocitos B circulantes (p. ej., de sangre en humanos o de bazo en roedores). En términos generales, dichos estudios han demostrado la existencia en la periferia de una extensa gama de autoanticuerpos que reconocen antígenos de células beta, incluyendo GAD, IA-2, insulina, CPE (*carboxypeptidase H*), ICA69 (*islet cell autoantigen of 69kDa*), y gangliósido GM2-1.

Tolerancia y células T reguladoras en el ratón NOD

En condiciones fisiológicas, el timo permite la maduración de timocitos con cierto grado de autorreactividad. De esta forma, encontramos con cierta frecuencia en sangre periférica de individuos sanos la presencia de linfocitos T autorreactivos. Estos linfocitos son silenciados mediante varios mecanismos inmunológicos de tolerancia periférica, como la delección, la ignorancia inmunológica o la anergia.

En estos últimos años, ha suscitado gran interés el mecanismo de supresión como mecanismo de tolerancia, que parece estar mediado por un grupo heterogéneo de linfocitos T reguladores (Treg), de los cuales algunos son células T supresoras naturales, es decir que se encuentran de manera constitutiva en el organismo, mientras que otras son inducidas mediante vías específicas de estimulación antigénica. Las células Treg supresoras naturales requieren el contacto celular directo para realizar su efecto regulador. En este grupo se incluyen los linfocitos T CD4+/CD25+, los linfocitos T NK (natural killer), y probablemente los linfocitos T $\gamma\delta$. Por el contrario, la población de células T reguladoras inducidas pueden obtenerse *in vitro* después de la unión con el antígeno en presencia de IL-10 y TGF- β , y también mediante inducción con tolerancia oral. Este grupo de células Treg está mayoritariamente constituido por dos

subpoblaciones de linfocitos T CD4+, las células Tr1 y Th3, que llevan a cabo su efecto supresor mediante la secreción de IL-10 y/o TGF- β .

Además de linfocitos T CD4+, también se han descrito tres subgrupos de linfocitos T CD8+ capaces de ejercer funciones supresoras sobre linfocitos T antígeno-específicos. El grupo 1 de células Treg CD8+ actúa impidiendo la expresión de moléculas coestimuladoras en células presentadoras de antígeno, el grupo 2 inhibiendo la secreción de IFN- γ e IL-6, y el grupo 3 a través de la secreción de citocinas especialmente de IL-10. En estos últimos años, un número importante de estudios ha demostrado la importancia de las células Treg en el mantenimiento de la tolerancia natural a lo propio, y por ello se ha demostrado también su importancia en la prevención de las enfermedades autoinmunitarias, incluyendo la DM1. En el caso del ratón NOD parece existir un defecto en la capacidad de generar un número suficiente de células Treg, ya que su porcentaje es de aproximadamente sólo la mitad de las existentes en cepas de ratones resistentes a la autoinmunidad. No deja de ser interesante observar que la transferencia de células T reguladoras en ratones NOD es suficiente para suprimir el desarrollo de diabetes. Por otro lado, algunos estudios han demostrado que la eficacia de la supresión dependería de la especificidad antigénica de las propias Treg. Así, se ha demostrado que células Treg específicas para insulina o con especificidad BDC 2,5-TCR pueden suprimir eficazmente el desarrollo de diabetes cuando éstas se transferían con linfocitos T diabetogénicos en modelos de transferencia. Aunque es probable que en la periferia se originen células Treg en respuesta a autoantígenos, la porción principal de estas células parece tener su origen en el timo, ya que se ha observado que la timectomía en ratones NOD produce una aceleración en el debut diabético.

Estado funcional de las células beta pancreáticas y DM1 en ratones NOD

Además de los defectos propios en la regulación del sistema inmunitario, la condición funcional de las propias células beta es decisiva en la patogénesis de la DM1. Así, se han señalado como causas del proceso autoinmunitario la disfunción y el incremento en la muerte de la célula beta cuando termina la lactancia y comienza la dieta adulta (2-3 semanas de vida), justo antes de la aparición de los primeros infiltrados insulares. También se ha relacionado un incremento de la actividad funcional de las células beta con un aumento de la incidencia de la enfermedad. Así, en ratones NOD, el tratamiento preventivo con insulina que reduce la actividad funcional de las células beta insulares conduce a un descenso en la incidencia de la diabetes. Estos resultados sugieren que un incremento en la actividad de la célula beta puede llevarla a un proceso de estrés, y en último término inducir: 1) un incremento de la presentación antigénica en células beta; 2) una posible producción de nuevos autoantígenos (neoantígenos); y/o 3) un incremento de la muerte de las células beta con la consiguiente producción y liberación de señales de peligro (ácido úrico, interferones, *heat-shock proteins*, productos de degradación de matriz extracelular, etc.). De hecho, se ha descrito que las células beta de ratones NOD son constitutivamente más sensibles a las citocinas proinflamatorias como IL-1 β , TNF, y al IFN- γ . Todo ello hacer presuponer que en ratones NOD las posibilidades de presentación de autoantígenos insulares por parte de células APC a linfocitos T con especificidad por células beta es mayor que en otras cepas de ratón.

De los modelos animales al ser humano

No cabe ninguna duda de que los modelos animales de DM1 han sido, y siguen siendo, la mayor fuente de conocimiento sobre esta patología; tanto en lo concerniente a la fisiología

del páncreas, como en lo relativo a la activación y desarrollo de la respuesta autoinmunitaria que destruye las células pancreáticas. Sin embargo, no se debe olvidar que, como su nombre indica, sólo son modelos en los que se intenta ver un reflejo de la patología humana. Así pues, no toda la información extraída de los estudios con modelos animales será directamente extrapolable y aplicable a los pacientes humanos.

La divergencia evolutiva que nos separa de los roedores desde hace 65 millones de años ha tenido consecuencias inevitables en anatomía y fisiología, ya que cada uno se ha adaptado a las exigencias del nicho ecológico en el que habita. Por esta razón, se encuentran diferencias incluso en el sistema inmunitario de ambos géneros, tanto en lo relativo a inmunidad innata (defensinas, *Toll-like receptors*, vías de activación de los macrófagos, receptores de células NK y NKT) como por lo que respecta a la respuesta de adaptación (receptores FcR, isotipos de inmunoglobulinas, señales de maduración de las células B y T, células T γ/δ , efectos de la IL-10, niveles de expresión de CD28, selectinas, quimiocinas, capacidad de presentar por parte de linfocitos T y células endoteliales).

Pese a estas diferencias, la base fundamental es que en las cepas utilizadas como modelo para el estudio de la diabetes tipo 1 se produce, de forma espontánea, un ataque autoinmunitario contra las células beta pancreáticas, que está mediado por células T efectoras. Además, el origen de la enfermedad, en todas ellas, es multifactorial y poligénico, presentándose siempre el loci de MHC ligado a la enfermedad. Todos los modelos presentan defectos que influyen en la aparición de disfunciones en la tolerancia central y/o periférica, dando lugar a la aparición de síndromes autoinmunitarios que afectan también a otros órganos, al igual que ocurre en algunos pacientes.

Sin embargo, ningún modelo animal es perfecto, y la patología de la enfermedad no es exactamente igual a la humana en ningún caso. El ratón NOD, aun siendo el más utilizado (al ser el primero que se originó y ser relativamente fácil la manipulación genética en ratón) presenta peculiaridades en el desarrollo de la DM1 que no se observan en humanos: mayor incidencia de la diabetes en hembras, insulinitis de grado moderado e incluso severo en los islotes, baja diversidad de autoanticuerpos antislote detectables en suero, etcétera. También la rata BB, cuya incidencia y anatomía del infiltrado es más similar a la humana, presenta diferencias apreciables, como la ausencia de reactividad humoral contra las células beta. No obstante, estas diferencias no son suficientes para anular la potencialidad de estos modelos animales como fuente de conocimiento respecto a la etiopatogenia de la DM1.

No hay que olvidar tampoco que estas cepas son congénitas, es decir, que todos los individuos son genéticamente iguales. Por tanto, los defectos en la tolerancia central y/o periférica son específicos de cada modelo y no son, en su globalidad, compartidos con los pacientes humanos. Los efectos individuales de cada elemento alterado son diversos, pero el efecto final global es similar. En la DM1 en humanos, cada paciente presenta su propia combinación particular de defectos que conducen al fallo de los mecanismos de tolerancia. Probablemente, ésta es una de las razones por las cuales los modelos animales han sido menospreciados tras el fracaso de terapias preventivas que habían demostrado ser eficaces en ratones NOD. Como se ha comentado anteriormente, hasta la fecha se han descrito casi 200 estrategias terapéuticas con capacidad para prevenir o retardar la aparición de la diabetes en ratones NOD, pero la inmensa mayoría de ellas no son aplicables o efectivas en pacientes humanos. En primer lugar, es necesario puntualizar que muchas de estas terapias han sido concebidas como estrategias

preventivas mediante la utilización de agentes inmunomoduladores, cuya aplicación comienza durante el inicio de la insulinitis, aprovechando que se conoce que comienza entre las 3-5 semanas de vida de estos ratones. En contrapartida, no se puede saber con exactitud cuándo un individuo susceptible de presentar diabetes va a desarrollar la respuesta autoinmunitaria, y a esto se añade que las terapias inmunomoduladoras pueden tener efectos colaterales no deseados, ya que inducen inmunosupresión, con lo cual la perspectiva del balance beneficio/riesgo hace que estas terapias preventivas no sean recomendables.

Aun reconociendo la gran valía del ratón NOD como modelo de investigación de la DM1, ya que ha sido el objeto de estudio de la mayoría de trabajos realizados al respecto, vale la pena recordar que no es el único. A efectos teóricos, cada modelo animal puede considerarse como un único individuo, con lo cual la información que puede aportar es equivalente a la que podríamos obtener de un paciente humano con DM1. Por esta razón, el futuro de la investigación básica en DM1 pasa, sin ninguna duda, por la diversificación de los estudios utilizando varios y variados modelos animales de DM1.

Bibliografía

Anderson MS, Bluestone JA. The NOD mouse model of immune dysregulation. *Annu Rev Immunol.* 2005; 23: 447-485.

Eisenbarth GS. Animal models of Type 1 Diabetes: genetics and immunological function. *Type 1 Diabetes: molecular, cellular, and clinical immunology.* Updated, marzo 2005; capítulo 3. (<http://www.uchsc.edu/misc/diabetes/eisenbook.html>).

Homo-Delarche F, Drexhage HA. Immune cells, pancreas development, regeneration and type 1 diabetes. *Trends Immunol.* 2004; 25: 222-229.

Lieberman SM, DiLorenzo TP. A comprehensive guide to antibody and T-cell responses in type 1 diabetes. *Tissue Antigens.* 2003; 62: 359-377.

Mathis D, Benoist C. Beta-cell death during progression to diabetes. *Nature*. 2001; 414: 792-798.

Mestas J, Hughes CCW. Of mice and not men: differences between mouse and human immunology. *J Immunol*. 2004; 172: 2.731-2.738.

Ramanathan S, Poussier P. BB rat lyp mutation and Type 1 diabetes. *Immunol Rev*. 2001; 184: 161-171.

Rees DA, Alcolado JC. Animal models of diabetes mellitus. *Diabetic Medicine*. 2005; 22: 359-370.

Roep BO, Atkinson M, Von Herat M. Satisfaction (not) guaranteed: re-evaluating the use of animal models of type 1 diabetes. *Nat Rev*. 2004; 4: 989-997.

Yang Y, Santamaría P. Dissecting autoimmune diabetes through genetic manipulation of non-obese diabetic mice. *Diabetologia*. 2003; 46: 1.447-1.464.

Prevención de la diabetes tipo 1.

Lecciones tras la decepción inicial

D. Mauricio, J.M. González-Clemente

Introducción

Como preámbulo, debemos indicar que utilizaremos aquí el término diabetes mellitus tipo 1 (DM1) como equivalente del subtipo 1a, en el que se demuestran signos de autoinmunidad, y que supone en nuestro medio una gran mayoría de los casos diagnosticados. De hecho, en algunos estudios realizados en nuestro país, que llevaron a cabo una completa caracterización clínica e inmunológica, hasta un 96% de los casos de nuevo diagnóstico se pueden clasificar como de etiopatogenia autoinmune.

En este capítulo de la monografía discutiremos básicamente los estudios de intervención que han tenido lugar en los últimos años, con el objetivo de prevenir la aparición de la DM1 en humanos con riesgo de desarrollar la enfermedad. Obviamente, el título de esta sección hubiese sido otro si nos hubiéramos referido a los estudios que demuestran una prevención efectiva de la enfermedad en modelos animales. Por ejemplo, en el caso del modelo animal de diabetes autoinmune espontánea en el ratón NOD (*Non-obese diabetic mouse*), en una parte del título se podría haber leído lo siguiente: «Qué fácil es prevenir la diabetes autoinmune». Como vere-

mos más adelante, esta discordancia con respecto a la efectividad de las intervenciones preventivas en el paciente humano y en los modelos animales nos ha enseñado más de una lección.

Frente a la multitud de intervenciones que pueden llevarse a cabo en los primeros indicios clínicos de la diabetes tipo 1 (prevención secundaria), en un intento de inducir una remisión clínica o preservar la masa celular beta residual, a las que hemos asistido desde la década de los ochenta, son hasta ahora pocos los estudios de prevención en individuos con riesgo de desarrollar la enfermedad (prevención primaria). Estos últimos se han realizado sobre todo en familiares de primer grado de pacientes con DM1 que eran portadores de autoanticuerpos asociados a la enfermedad, aunque también está en marcha un estudio de prevención en niños que únicamente presentan riesgo genético de DM1 antes de que exista manifestación alguna de autoinmunidad.

Diferentes estrategias terapéuticas han sido ensayadas en la prevención de la DM1, tanto en humanos como en modelos animales, en un intento de incidir en alguno de los actores de la escena en la que se desarrolla el proceso patogénico de la enfermedad. En la figura 1 se representan los principales protagonistas del proceso patogénico de la diabetes autoinmune, sobre los cuales se puede intervenir con la intención de cambiar la secuencia de acontecimientos que conduce a la destrucción de las células productora de insulina. Se han ensayado intervenciones en cada una de ellos, excepto sobre los factores de predisposición genética, en los cuales (al menos hasta este momento) no es posible intervenir, y más cuando desconocemos en qué genes reside hasta un 50% de la contribución genética a la enfermedad. Describiremos aquí ejemplos de intervención sobre cada uno del resto de los protagonistas de la enfermedad (figura 1).

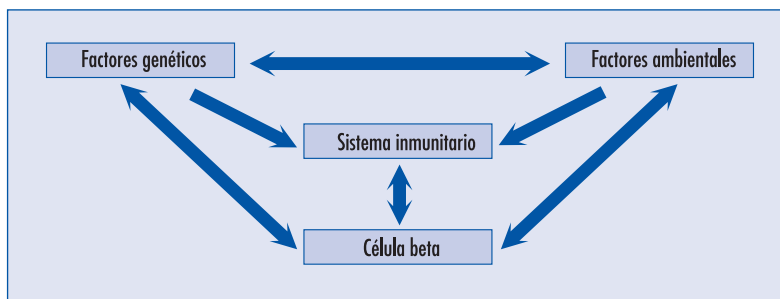


Figura 1. Principales protagonistas del proceso patológico de la diabetes mellitus tipo 1

Se pretende ilustrar, mediante esta representación tetraédrica, que el balance final del proceso autoinmune que desemboca en la destrucción de las células beta pancreáticas es fruto de las interrelaciones entre los diferentes actores de la escena. En cada uno de ellos y entre ellos existe una compleja red de interacciones que condiciona la cronología, la intensidad de la lesión y, por tanto, el resultado final del proceso etiopatogénico. Los sistemas complejos no tienen habitualmente respuestas simples. Estos hechos deben ser tenidos siempre en cuenta a la hora de plantear las estrategias de prevención.

Las principales estrategias planteadas hasta la actualidad se han centrado sobre: 1) la protección de la célula beta (agentes antiinflamatorios, protección frente a radicales libres, y reposo funcional de la célula); 2) el sistema inmunitario (inmunosupresión, inmunomodulación no específica o semiespecífica, e inducción de tolerancia inmunológica), y, finalmente, 3) sobre los factores ambientales, evitando la exposición a posibles antígenos desencadenantes. No revisaremos cada una de estas estrategias, ya que la mayoría han sido ensayadas en la prevención secundaria de la enfermedad (en sus primeros indicios clínicos) y son objeto de estudio de otro capítulo de esta monografía.

Predicción de la diabetes mellitus tipo 1

En un capítulo previo de este libro, se revisa detalladamente la historia natural de la enfermedad. Como se ha descrito en él, actualmente disponemos de marcadores genéticos, inmunológicos y metabólicos que nos permiten definir un perfil de riesgo

en las poblaciones que han sido objeto de estudio, principalmente familiares de primer grado de pacientes con DM1. En primer lugar, en el sistema mayor de histocompatibilidad encontramos genes de susceptibilidad y protectores. Por otra parte, los marcadores inmunológicos que se utilizan en la actualidad son los autoanticuerpos asociados a la enfermedad, no habiéndose podido estandarizar hasta el momento ningún marcador de respuesta inmune celular (linfocitos T). Entre los autoanticuerpos, actualmente los anticuerpos dirigidos contra el citoplasma de las células del islote (ICA: *cytoplasmic islet cell antibodies*) han pasado a una segunda línea, siendo los anticuerpos anti-GAD (*glutamic acid decarboxylase*), anti-IA2 (antígeno insular con actividad tirosin-fosfatasa; *insulinoma-associated antigen 2*) y los antinsulina (anti-IAA: *insulin auto-antibodies*) los que se utilizan en el cribado inicial. A pesar de ello, veremos que los estudios de prevención diseñados en los años noventa aún utilizaron los ICA como estrategia de cribado de primera línea. Actualmente, la combinación de anti-GAD con anti-IA2 o anti-IAA (estos últimos en población infantil) constituye la estrategia de cribado recomendada, que consigue definir con elevada precisión el riesgo de presentar la enfermedad básicamente en familiares de primer grado de pacientes con DM1. Cabe señalar, por otro lado, que los marcadores metabólicos de que disponemos son el test de tolerancia a la glucosa intravenosa, que mide la primera fase de insulinosecreción, y el test de tolerancia a la glucosa, que define el estatus de la tolerancia hidrocarbonada. La caracterización mediante estos marcadores de la historia preclínica de la enfermedad ha conducido a la definición de lo que conocemos como prediabetes tipo 1, que viene definida por el periodo clínicamente silente en el que se produce la destrucción de las células productoras de insulina. En esta fase se detectan signos de autoinmunidad, con positividad para uno o más autoanticuerpos, y en la fase más cercana al inicio clínico un deterioro del primer estadio de insulino-secreción estimulada por glucosa intravenosa.

El conocimiento alcanzado en la historia natural de la enfermedad y la posibilidad de realizar un cribado con precisión hicieron posible, en su momento, el inicio de ensayos de intervención en familiares de primer grado de pacientes con la enfermedad, que eran portadores de marcadores preclínicos de diabetes autoinmune y que, por tanto, en muchos casos presentaban una prediabetes tipo 1.

Principales intervenciones ensayadas en la prediabetes tipo 1

Centraremos nuestra atención en los grandes estudios. Aunque son escasos, han permitido dar una respuesta a las hipótesis formuladas. En la descripción que llevaremos a cabo, no nos extenderemos más que en los datos fundamentales del estudio, y en la base racional y experimental que determinó su realización. Por ello, aconsejamos al lector la revisión de las publicaciones originales, donde se puede encontrar una información mucho más detallada.

Insulina: los estudios DPT-1

La utilización de la insulina en la prevención de la DM1 se fundamenta en dos conceptos. El primero es que la insulina es capaz, cuando se administra por vía parenteral (como se ha demostrado en algún modelo animal y como sugerían estudios sobre el inicio clínico de la enfermedad en humanos), de inducir lo que se conoce como «reposo de la célula beta», al disminuir la exigencia funcional secretora sobre la misma, y haciéndola hipotéticamente menos susceptible a la lesión inmunológica. El segundo, y probablemente más importante, es el concepto de que la insulina (al igual que otros antígenos), administrada por diversas vías, es capaz de inducir lo que se conoce como tolerancia inmunológica. Este concepto implica que la administración del antígeno en dosis bajas es capaz de provocar una respuesta de inmunidad protectora a través de la inducción

de células T reguladoras antígeno-específicas, capaces de generar la liberación de citocinas inhibitoras (con efecto protector) en el órgano diana. La administración de insulina o de sus péptidos por vía oral (o en cualquier otra mucosa) puede inducir una respuesta reguladora de las células T en el intestino, lo que evitaría el principal efecto adverso que supone la vía parenteral, esto es, la hipoglucemia.

Basándose en estudios experimentales en animales y en estudios piloto en humanos, un extenso grupo de investigadores norteamericanos constituidos como el Diabetes Prevention Trial-Type 1 Study Group (DPT-1) ha concluido dos ensayos clínicos controlados en familiares de pacientes con DM1 portadores de autoanticuerpos. Las fases de cribado para el riesgo, que fueron comunes en ambos ensayos, lograron identificar a un total de 103.391 familiares de primer y segundo grado de pacientes con DM1. Todos ellos fueron sometidos a estudio genético, metabólico e inmunológico, lo cual permitió la posibilidad de definir el estadio de riesgo. Tanto los pacientes con un test de tolerancia oral a la glucosa positivo y diagnóstico de diabetes, como los portadores del haplotipo protector HLA (*Human Leucocyte Antigen*) *DQA1*0102*, *DQB1*0602*, fueron excluidos.

El primero de los estudios fue un ensayo clínico aleatorizado abierto y controlado de tratamiento con insulina parenteral en familiares con riesgo elevado de desarrollar la enfermedad (más del 50% de probabilidad a 5 años). El objetivo primario del estudio fue la aparición de diabetes (criterios de la American Diabetes Association). Se trataba de individuos con positividad para ICA (≥ 10 U JDF [Juvenile Diabetes Foundation]) y disminución de la respuesta (estimulada por glucosa intravenosa) de insulinosecreción de primera fase alterada (por debajo del percentil 10) y/o un test de tolerancia oral a la glucosa cuyos resultados no eran completamente normales. Se incluyeron un total de 339 familiares (170 en el grupo control). La intervención con-

sistía en tratamiento anual por cuatro días con insulina intravenosa (0,015 U/kg/día), y durante el resto del tiempo con insulina subcutánea (0,125 U/día) en dos dosis. La media del tiempo de seguimiento fue de 3,7 años. El grupo control no recibió ningún tipo de tratamiento. El resultado final demostró que la insulina administrada en estas dosis por vía parenteral carece de efecto protector sobre el desarrollo de diabetes en individuos que presentan alto riesgo.

Aquellos pacientes con positividad para ICA y para anticuerpos IAA, con una primera fase de insulinosecreción no alterada y tolerancia oral a la glucosa normal, fueron definidos como de riesgo intermedio (probabilidad de diabetes entre 26-50% a 5 años). Un total de 372 individuos con estas características fueron incluidos en el ensayo de intervención con insulina oral (7,5 mg/día) (186 recibieron placebo). Se trató de un ensayo aleatorizado doble ciego controlado con placebo, cuyo objetivo primario fue el mismo que el del estudio anterior (la media de tiempo de seguimiento fue de 4,3 años). Sus resultados acaban de ser publicados, y muestran una falta de protección de la insulina oral en estas dosis sobre el desarrollo de diabetes en familiares con un riesgo intermedio. Uno de los problemas de este estudio fue que se cambió el criterio del nivel de IAA necesario para ser seleccionado. Se pasó de un nivel exigido de más de 5 DE sobre la media del rango de referencia a 3 DE. En un análisis posterior, los resultados sugieren que en quienes cumplían el criterio inicial de estos anticuerpos (>5 DE; $n=263$) la insulina oral reduce la incidencia de diabetes (6,2 frente a 10,4% en el grupo placebo; $p=0,015$). A pesar de ello, este subanálisis es en todo caso un hallazgo generador de hipótesis, pero no demuestra un resultado concluyente.

Finalmente, nos queda mencionar que en Finlandia está en marcha desde hace más de 5 años un ensayo clínico aleatorizado a doble ciego y controlado con placebo de intervención

mediante insulina nasal en niños seguidos desde el nacimiento y que desarrollan ICA. En este ensayo clínico, denominado DIPP (Type 1 Diabetes prediction and prevention project), se pretende incluir un número de más de 1.000 individuos.

Nicotinamida: los estudios DENIS y ENDIT

La realización de estudios en humanos con esta sustancia se basó en la evidencia existente de que la nicotinamida era capaz de prevenir o retrasar el desarrollo de diabetes autoinmune en modelos animales, y en diferentes acciones demostrables *in vitro* e *in vivo* de protección de la célula beta pancreática por parte de la misma. Entre otras acciones, la nicotinamida protege a la célula beta frente a diversas sustancias químicas tóxicas y frente a la acción de los macrófagos y sus citocinas; ejerce, además, un efecto prorrregenerativo de la célula productora de insulina. Existen tres estudios pilotos en prediabetes cuyos resultados fueron dispares. A pesar de ello, se han realizado dos ensayos clínicos a doble ciego aleatorizados y controlados con placebo.

El primero de ellos fue el estudio DENIS (The Deutsche Nicotinamide Intervention Study), en el que se incluyeron hermanos de diabéticos tipo 1 portadores de ICA (título ≥ 20 U JDF) con edades comprendidas entre los 3 y 12 años identificados en Austria y Alemania entre 1990 y 1996. Se aleatorizaron con un diseño secuencial un total de 55 individuos (30 en la rama de placebo), que se trataron con nicotinamida vía oral (1,2 g/m² de superficie corporal) o placebo. El estudio no demostró un efecto preventivo de la sustancia sobre la aparición de diabetes. Incluso se demostró un efecto deletéreo de la nicotinamida sobre la primera fase de secreción de insulina estimulada por glucosa en el grupo tratado con la sustancia activa. La limitación de este estudio estuvo fundamentalmente en que el número de individuos incluidos era insuficiente para detectar con una potencia adecuada un posible efecto de reducción de la incidencia de diabetes.

El estudio que definitivamente respondió a la pregunta con un diseño y una potencia adecuada fue el ENDIT (European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial). Se trató igualmente de un ensayo clínico a doble ciego aleatorizado y controlado con placebo, que involucró a 354 centros de 18 países europeos (entre los cuales se encontraba España), además de Canadá y un grupo de EE.UU. Para poder reclutar un número suficiente de individuos, se realizó un cribado de anticuerpos (ICA) a más de 30.000 familiares de primer grado de pacientes con DM1 (edad de inicio menor de 20 años) entre 1990 y 1998. Se aleatorizaron un total de 552 familiares de primer grado portadores de ICA (≥ 20 U JDF) con edades entre 3 y 40 años. El objetivo primario del estudio fue la aparición de diabetes definida según los criterios de la OMS (Organización Mundial de la Salud) durante los siguientes 5 años. El ensayo clínico se inició en 1996, y se concluyó tras un segundo análisis intermedio en 2002. La dosis de nicotinamida utilizada fue la misma que en el estudio DENIS (con un máximo de 3 g/día para individuos adultos). Desgraciadamente, no se detectó diferencia alguna entre las dos ramas del ensayo en ninguno de los objetivos del estudio.

Intervención sobre factores ambientales: el estudio TRIGR

Entre los múltiples agentes ambientales que han sido presentados como posibles agentes causales, inductores o desencadenantes del inicio del proceso de destrucción autoinmune de la célula beta, se encuentran diversos antígenos presentes en la alimentación. En el paciente humano, diversos estudios epidemiológicos e inmunológicos han señalado a las proteínas de la leche de vaca como posible agente implicado en la etiopatogenia de la diabetes autoinmune, a pesar de que otros hallazgos desmentían dicho papel. De hecho, aunque existen estudios prospectivos en esta dirección, la mayoría de ellos fueron retrospectivos. Existen, además, estudios en modelos animales (rata BB y ratón NOD) que demuestran el efecto deletéreo de la

exposición precoz a proteínas complejas a nivel intestinal sobre la aparición de diabetes autoinmune. El mecanismo por el cual tendría lugar una inducción de la autoinmunidad pancreática no queda claro, y no será objeto de discusión aquí. No obstante, se ha iniciado un ensayo clínico de intervención liderado por investigadores finlandeses cuyo objetivo es demostrar el efecto de la exposición precoz a las proteínas de la leche de vaca tras la lactancia materna en familiares de primer grado desde el nacimiento. El estudio se denomina «Proyecto TRIGR» (Trial to reduce IDDM in the genetically at risk), e incluye centros de 15 países (entre ellos España) de tres continentes. Aunque este estudio está en fase de realización, nos ha parecido importante comentarlo, ya que supone la primera intervención sobre un factor ambiental en la prevención de la DM1. Además, acaban de salir publicados los resultados del segundo estudio piloto preliminar de este ambicioso proyecto. Se trata de un estudio aleatorizado a doble ciego y controlado en el que se comparan dos prácticas de lactancia diferentes, cuyo objetivo primario es la aparición de diabetes. Los individuos del estudio son recién nacidos con familiares de primer grado portadores de una DM1. Se realiza una determinación de haplotipos HLA, y si el neonato presenta un haplotipo de riesgo de diabetes tipo 1, se propone su inclusión en el ensayo. Se anima a todas las madres a realizar lactancia materna y, más tarde, se aleatoriza a sus hijos para recibir fórmulas de lactancia basadas en proteínas de leche de vaca en un grupo, y la fórmula del grupo de intervención que utiliza hidrolizado de caseína en el otro (y por tanto, se evita así el contacto precoz con proteínas de leche de vaca). Los resultados del segundo estudio piloto demuestran que es factible, y además, después de haber intervenido sobre 242 neonatos en Escandinavia, con un seguimiento medio de 4,7 años, se observó un efecto protector de la intervención sobre la aparición de ICA y la presencia de al menos un autoanticuerpo. Éste es otro de los grandes estudios, que nos muestra el enorme esfuerzo necesario para llevar a cabo los ensayos clínicos de intervención en prediabetes tipo 1.

Las lecciones que hemos aprendido

Antes de comentar lo que hemos aprendido, debemos apuntar que no quisimos cambiar el título del presente capítulo a pesar de que en él aparecía la palabra «decepción». Creemos, sinceramente, que la conclusión final no debe ser definida como decepcionante. El exceso de optimismo que se produjo hace más de 10 años entre la comunidad científica dedicada a esta área de conocimiento, se ha transformado en un cierto escepticismo, cuando no en pesimismo en boca de algunos. Creemos firmemente que estas últimas posturas tampoco son realistas, y que debemos situarnos en una actitud de permanente optimismo bien informado, ya que estamos claramente más cerca de lograr tratamientos de prevención efectivos.

Una de las primeras lecciones que hemos aprendido, aunque parezca obvia a estas alturas para un investigador, es que nada es tan sencillo como parece. La diabetes autoinmune en el paciente humano es una enfermedad realmente compleja en su patogenia, y heterogénea en su expresión clínica. El sistema inmunológico opera mediante un complejo entramado de mecanismos que, además de no ser completamente conocidos, suponen un sistema claramente redundante. Esto significa que, cuando se interviene sobre una de las vías de este sistema, el resto de vías puede asegurar el efecto final de la destrucción autoinmune. Por tanto, es posible que debamos intervenir con terapias de combinación, como ocurre en el tratamiento de los pacientes trasplantados. Muy probablemente los tratamientos múltiples serán el siguiente paso, sobre todo teniendo en cuenta la eclosión de nuevas terapias de inmunointervención.

Además, la complejidad del sistema y las interacciones entre sus actores (figura 1) obligan a renovar los esfuerzos dirigidos a obtener un mayor conocimiento de la patogenia de la enfermedad. Estos esfuerzos deben ir dirigidos a conocer los meca-

nismos de autoinmunidad, las características de la lesión que sufre la propia célula beta y su forma de muerte, los factores ambientales involucrados, y los mecanismos de susceptibilidad genética. Aquí debemos apuntar que, aunque útiles en la investigación, los resultados obtenidos en modelos animales no son en muchos casos representativos o directamente aplicables a la enfermedad en el paciente humano. En este tipo de investigación, es necesario por una parte exigir un mayor nivel de realismo y estándares de calidad, y por otra, la búsqueda de nuevos modelos animales.

Ha quedado claro, tras los grandes ensayos de prevención que se han llevado a cabo, que los estudios piloto tienen un valor limitado, y que nunca deben inducir cambios en la práctica clínica habitual. A modo de ejemplo, cabe señalar a algunos médicos norteamericanos que defendían el uso de insulina en pacientes con prediabetes tipo 1, y que daban sólo valor de confirmación a la puesta en marcha del estudio DPT-1. Los resultados les han dado la respuesta. Por tanto, los ensayos clínicos deben tener potencia suficiente para contestar a la pregunta que se plantea, y su diseño debe ser el adecuado. La experiencia nos ha demostrado que esto es claramente factible, y que existe suficiente capital investigador para llevar a cabo estudios de este tipo. A pesar de ello, en nuestra revisión hemos insistido en mostrar aquellos aspectos que permiten visualizar al lector el enorme esfuerzo que estos ensayos suponen, tanto en términos económicos como en cuanto a movilización de recursos humanos.

Lo que acabamos de apuntar ha originado una reflexión probablemente acertada, y es la que conduce a utilizar como modelos el de la intervención al inicio clínico de la DM1 y el de la diabetes tipo LADA (Latent Autoimmune Diabetes of the Adult). La movilización de recursos que suponen los ensayos de intervención en estas poblaciones es claramente menor, y

sus resultados nos marcan el camino que debemos seguir en el futuro. Por otra parte, es cierto que en estos casos intervenimos en una fase tardía del proceso autoinmune. Pero no es menos cierto que, si una estrategia de intervención fuese efectiva y tuviese una relación riesgo-beneficio favorable al inicio clínico de la enfermedad, supondría un verdadero avance en la prevención y un beneficio clínico indudable en términos de control metabólico, y por tanto, de aparición de complicaciones a largo plazo.

Es un hecho indudable que la expresión clínica de la diabetes autoinmune es heterogénea. El proceso autoinmune puede desembocar en una destrucción de células beta masiva en un tiempo breve, como ocurre en los casos de inicio clínico en edades muy tempranas, pero también en un proceso menos agresivo en el tiempo que se puede expresar clínicamente como una diabetes tipo LADA. Esto hace que el periodo de prediabetes en cada caso sea distinto. Todo ello debe hacernos reflexionar sobre la heterogeneidad de la respuesta a tratamientos preventivos en las diferentes formas clínicas: lo que en unos casos funciona, puede no tener efecto alguno en otros. Este axioma nos obliga a ser cautos ante la generalización de los resultados que potencialmente se puedan obtener. De manera análoga, una intervención puede ser efectiva en fases iniciales de la prediabetes tipo 1, y no en etapas más avanzadas, es decir, cercanas al debut clínico.

Los estudios de intervención que aquí se han revisado han tenido un valor adicional en cuanto a la información que han aportado sobre la historia natural de la enfermedad. Se ha podido comprobar que las estrategias de predicción son suficientemente precisas. Las estrategias de detección y definición de estadios de la prediabetes tipo 1 que podemos aplicar actualmente son más sensibles y específicas que las que se usaron en estos ensayos. Esta mejora en la predicción hace más rentable

el esfuerzo que puede suponer un ensayo clínico. Por ejemplo, aplicando la estrategia actual de cribado y definición de estadios con múltiples autoanticuerpos, el estudio ENDIT hubiese permitido realizar dos ensayos equivalentes al estudio inicial con el mismo número de individuos. Sin embargo, es preciso profundizar en el conocimiento de la historia natural de la diabetes tipo 1, ya que carecemos aún de marcadores estandarizados que nos permitan medir la respuesta de células T específicas, potencialmente útiles como objetivo de resultado intermedio (*surrogate*) en los estudios. Es destacable la ausencia de métodos que permitan visualizar o medir el proceso autoinmune en el órgano diana, y sin embargo debería ser otro ámbito de intensa búsqueda. Dichos métodos podrían ser, cómo no, muy útiles en la valoración de la efectividad de los potenciales tratamientos.

Existe, sin embargo, un importante vacío en el área de la prevención primaria de la diabetes tipo 1. Nos referimos al estudio de la predicción y prevención de la enfermedad en la población general. Existen muy pocos estudios sobre la historia natural de la diabetes tipo 1 en la población general, ya que la inmensa mayoría se han realizado en familiares de primer grado de pacientes. Si se consigue un tratamiento de prevención primaria de la enfermedad, no debemos presumir de que el mismo sea aplicable a los casos esporádicos de diabetes tipo 1, que por otra parte representan un porcentaje mayoritario (en todo caso, más del 80%). Ni tampoco debemos asumir directamente que la evolución de la prediabetes tipo 1 es la misma en los casos esporádicos, sin antes haber realizado estudios adecuados. Este punto es olvidado, con frecuencia, por muchos de nosotros cuando nos referimos al conocimiento alcanzado hasta el momento sobre la historia natural, la predicción y la prevención de la enfermedad. Por tanto, nos queda aún mucho camino por recorrer en esta área y, sin duda, nuevas lecciones por aprender.

Finalmente, cabe señalar que el horizonte en este ámbito no es el mismo que el de hace una década, y probablemente estamos más cerca de poder diagnosticar la prediabetes tipo 1 y de poder ofrecer un tratamiento. Contrariamente a la afirmación de que la prevención de la diabetes tipo 1 había entrado en una vía muerta, nuestro mensaje final es que, aunque el camino pueda ser largo, seguro que no lo es más que para otros grandes retos que tiene planteada la medicina actual. Por tanto, debemos seguir trabajando en la búsqueda de estrategias que conduzcan a una prevención efectiva de la enfermedad.

Bibliografía

Akerblom HK, Virtanen SM, Ilonen J, Savilahti E, Vaarala O, Reunanen A et al. Dietary manipulation of beta cell autoimmunity in infants at increased risk of type 1 diabetes: a pilot study. *Diabetologia*. 2005; 48: 829-837.

Atkinson MA. Thirty years of investigating the autoimmune basis for type 1 diabetes. Why can't we prevent or reverse this disease? *Diabetes*. 2005; 54: 1.253-1.256.

Chase HP, Hayward AR, Eisenbarth GS. Clinical trials for the prevention of type 1 diabetes. In *Type 1 diabetes: molecular, cellular and clinical immunology*. Eisenbarth GS, Lafferty K, editors. Edición electrónica, versión 2.5. Último acceso 27-2-05 desde: <http://www.uchsc.edu/misc/diabetes/osch12.html>

Daaboul J, Schatz D. Overview of prevention and intervention trials for type 1 diabetes. *Rev Endocr Metab Disord*. 2003; 4: 317-323.

Diabetes Prevention Trial – Type 1 Diabetes Study Group. Effects of insulin in relatives of patients with type 1 diabetes mellitus. *New Engl J Med*. 2002; 346: 1.685-1.691.

European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial (ENDIT) Group. European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial (ENDIT): a randomised controlled trial of intervention before the onset of type 1 diabetes. *Lancet*. 2004; 363: 925-931.

Grupo de estudio de la etiopatogenia y prevención de la diabetes mellitus tipo 1. Recomendaciones de la Sociedad Española de Diabetes sobre la

evaluación de riesgo de Diabetes Mellitus tipo 1. Avances en Diabetología. 2001; 17: 77-79.

Lampeter EF, Klinghammer A, Scherbaum WA, Heinze E, Haastert B, Gianni G et al. The Deutsche Nicotinamide Intervention Study. An attempt to prevent type 1 diabetes. Diabetes. 1998; 47: 980-984.

Schatz D, Gale EAM, Atkinson MA. Why can't we prevent type 1 diabetes? Maybe it's time to try a different combination. Diabetes Care. 2003; 26: 3.326-3.328.

The Diabetes Prevention Trial-Type 1 Study Group. Effects of oral insulin in relatives of patients with type 1 diabetes. The Prevention Trial-Type 1. Diabetes Care. 2005; 28: 1.068-1.076.

Estudios de intervención en la diabetes mellitus tipo 1 de reciente diagnóstico. ¿Nos queda algo por probar?

D. Acosta, M.^a Ángeles Pomares

Introducción

La diabetes mellitus tipo 1 (DM 1) es una enfermedad que resulta del desequilibrio entre una destrucción selectiva autoinmune de la célula beta y un proceso de regeneración de la propia célula beta. Los progresos realizados en la capacidad para predecir la enfermedad han comportado esfuerzos para prevenirla en individuos susceptibles de padecerla. Dos artículos recientes recogen las diferencias y similitudes en la DM1 entre los modelos animales y los humanos, uno de ellos insistiendo especialmente en la gran cantidad de sustancias –en torno a 125– que han demostrado prevenir o retrasar la diabetes en ratones diabéticos no obesos (NOD) pero que, sin embargo, no han tenido ninguna relevancia en humanos. Teniendo en cuenta estos aspectos, de la experimentación con diversos modelos animales cabe extraer una serie de medidas que seguramente podrán contribuir a la prevención de la DM1 en humanos: intentar una intervención lo más precoz posible con agentes terapéuticos seguros; avanzar en el conocimiento de factores patógenos ambientales específicos; diseñar más estudios en el inicio de la enfermedad para revertirla o retener una

aceptable reserva pancreática; elaborar estudios de dosificación y toxicidad, establecer los criterios de «retraso marginal», «retraso significativo» y «prevención absoluta» en el desarrollo de la enfermedad, y desarrollar otros modelos animales en los que se evalúen distintas medidas terapéuticas.

Los progresos en la capacidad de predecir la DM1 han hecho que se desarrollen líneas de trabajo para prevenir la enfermedad en individuos susceptibles. Básicamente, los tres tipos de ensayos de prevención más generalizados han sido aquellos que pretenden eliminar los factores desencadenantes (prevención primaria), aquellos que pretenden detener la reacción inmune antes de que se desarrolle la enfermedad clínica (prevención secundaria) o aquellos que pretenden parar la enfermedad tras sus primeras manifestaciones clínicas (prevención terciaria).

En la tabla 1 recogemos las distintas intervenciones probadas o propuestas para interferir en el proceso diabetógeno. En estas páginas nosotros vamos a centrarnos en los múltiples estudios de intervención al inicio clínico de la diabetes tipo 1 (prevención secundaria).

Ensayos con inmunosupresores de amplio espectro en DM1

Entre los inmunosupresores de amplio espectro hemos de mencionar la ciclosporina A, la asociación de glucocorticoides con azatioprina, el metotrexato y la asociación de globulina antitimocito con corticoides.

La mayoría de los inmunosupresores de amplio espectro utilizados han mostrado cierta eficacia a corto plazo, pero requieren una administración continua para mantener su efecto, que además no ha sido nunca muy alto. Ninguno de los agentes induce tolerancia, lo que hace que tras abando-

Tabla 1. Intervenciones específicas probadas o propuestas para interferir en el proceso diabetógeno

Inmunosupresión generalizada

- Ciclosporina
- Azatioprina +/- glucocorticoides
- MMF + 7- anti-CD25
- Sirolimus (rapamicina)
- Anti-CD25

Inmunomodulación

- BCG
- Linomida
- Hsp-60 (péptido p277)
- Anti-CD3
- Lisofilina
- IL-2 + rapamicina
- Inmunoglobulina i.v. + rapamicina

Protección de la célula beta

- Nicotinamida
- Eliminar proteínas de la leche de vaca

Expansión de células beta

- INGAP (*islet neogenesis-associated protein*)
- Exendin
- GLP-1 (*glucagon like peptide*)

Reposo de células beta

- Insulina

Regulación inmunológica basada en antígenos

- Insulina oral o inhalada
- Insulinas modificadas: cadena-B, insulina MCP, insulina-APL, análogos
- GAD, GAD APL

nar la medicación se produzca una recurrencia de la enfermedad. Además, el entusiasmo inicial se desvaneció debido a la toxicidad de estos inmunosupresores: la resistencia a la

insulina inducida por corticoides, el riesgo potencial de patología maligna. Sabemos que en el momento del diagnóstico de la DM1 la masa presente de células beta que funcionan es demasiado pequeña y la capacidad de recuperación clínicamente significativa es poco probable. De ahí que no esté justificado añadir un riesgo adicional con los fármacos inmunosupresores clásicos.

Estudios con nuevos inmunosupresores, como mofetil micofenolato (MMF), sirolimus (rapamicina) y anticuerpos monoclonales anti-receptor IL-2 (anti-CD25) están en curso.

Ensayos con inmunomoduladores

Bacilo Calmette-Guèrin (BCG)

Su mecanismo de acción parece que es la producción de un cambio en la respuesta inmunitaria desde las células destructoras Th1 hacia las protectoras o no patógenas Th2, incrementándose los niveles de la interleucina 4 (IL-4). Aunque se observó un claro efecto terapéutico en ratones NOD, estudios doble ciego comparativos con la vacuna BCG en pacientes con DM1 de reciente comienzo no han mostrado ningún efecto en la progresiva caída de secreción de péptido C en los dos primeros años de la enfermedad.

Vitamina D

La observación de que las concentraciones de 1-25-dihidroxitamina D_3 en los individuos diabéticos de reciente comienzo son más bajas que en los controles durante el año previo al inicio de la enfermedad, sugiere la posibilidad de que análogos de la 1-25-dihidroxitamina D_3 pudieran constituir una estrategia preventiva útil. Eso dio lugar a que se iniciara en humanos un estudio multicéntrico caso-control (EURODIAB), que mostró que la suplementación de vitamina D se correlacionaba con una disminución del riesgo de la enfermedad.

Linomida

El inmunomodulador sintético linomida (quinolina-3-carboxamida) mostró una tendencia a incrementar los niveles de péptido C en pacientes con DM1 de reciente comienzo, particularmente en aquellos individuos con una función pancreática residual inicial aceptable; sin embargo, se abandonó por sus efectos adversos en ensayos distintos a la diabetes.

HSP60 (*heat shock protein 60*) y péptido p277

El péptido p277 de HSP60 se postula como autoantígeno en la DM1, y los estudios realizados en ratones NOD indican que la vacuna con HSP60 puede establecer circuitos reguladores cuyos resultados sean una expresión reducida de citocinas patogénicas y un incremento de citocinas protectoras. En un estudio aleatorizado, comparativo, doble ciego, de 35 pacientes, se evidenció que los niveles de péptido C estimulados estaban más altos en los pacientes tratados con 1 mg del péptido p277 HSP60, demostrando un incremento del fenotipo Th2. Vacunaciones repetidas con este péptido evitan las recidivas sin que se observen efectos colaterales, siendo la vacunación con este antígeno la primera evidencia de vacunación antigeno-específica que resulta efectiva en el tratamiento de la DM1; en estos momentos están desarrollándose estudios más amplios al respecto.

Anticuerpos monoclonales anti-CD3 (anti-CD3 mAb)

En 1994 se aportaron los primeros datos preclínicos sobre el uso de anticuerpos anti-CD3 mAb en ratones NOD. La hiperglucemia remitía en el 80% de los animales tratados, no siendo necesaria la inmunosupresión continua, de modo que cinco días de tratamiento normalizaban la glucemia en dos semanas y la enfermedad no recurría en un periodo mayor a seis meses; así pues, los anticuerpos anti-CD3 mAb inducían verdadera tolerancia inmunológica en este modelo animal. El mecanismo de actuación es a través de inducir un fenómeno regulador. Las células diabetógenas permanecen pero están inactivas, de manera que las células

esplénicas de animales tratados a animales no tratados transfieren la diabetes, pero no a los animales tratados.

Se desarrolló el CD3 mAb antihumano de ratón, el OKT3, cuya indicación original fue para tratar el rechazo de órganos trasplantados. Varios problemas impidieron que esta sustancia se pudiera usar en la diabetes. Los OKT3 producían *in vivo* una activación de células T, con una liberación de citocinas, que desencadenaba el síndrome de liberación de citocinas, con fiebre, hipotensión, mialgias y artralgias. Por otro lado, los pacientes tratados desarrollaban anticuerpos antinmunoglobulina de ratón que neutralizaba el mAb, lo que impedía el retratamiento.

Para eliminar la activación de las células T *in vivo*, se eliminó la porción FcR-binding del anti-CD3 mAb y se estudiaron los efectos de F(ab')₂ de anti-CD3 mAb, mostrando que los fragmentos F(ab')₂ de anti-CD3 mAb podían producir inmunomodulación en la diabetes y otras enfermedades inmunológicas sin ninguna activación de las células T ni otra morbilidad. Estudios preclínicos en modelos de DM1 hacían pensar que los anticuerpos anti-CD3 mAb podían producir tolerancia inmunológica, y las modificaciones antes mencionadas en la molécula podrían eliminar su toxicidad y cambiar su acción de manera que indujese tolerancia a la enfermedad.

Así, se sintetizaron dos anticuerpos humanizados anti-CD3 mAb Fc-mutados, el hOKT3γ1(Ala-Ala), y el ChAglyCD3, que no tendrían las propiedades de los OKT3 para liberar citocinas pero que evitarían la respuesta inmunitaria humana. Tras haberse empleado en otras enfermedades inmunológicas, en 1999 se inició un ensayo aleatorizado en fase I/II con hOKT3γ1(Ala-Ala) en pacientes con DM1 en fase inicial. La sustancia se administró durante 10 días de dosis completa, precedida por un periodo de 2-4 días de dosis progresiva. Se constató una buena tolerancia. El funcionamiento metabólico fue similar en el grupo tratado y en el no

tratado. Los efectos secundarios más frecuentes fueron fiebre, en el 75% de los casos, y exantema, en el 83%. Se observó un leve síndrome de liberación de citocinas, que apareció un día después de recibir el paciente la dosis completa. Tras un año de tratamiento, el grupo presentaba una mejor reserva pancreática, un mejor control metabólico y menores necesidades de insulina, lo que suponía que los anti-CD3 mAb producían una mejoría mantenida en la secreción insulínica sin necesidad de una supresión inmune continuada. No hubo ningún marcador inmunológico convencional que distinguiera a los que respondían de los que no respondían. Este primer estudio piloto de anti-CD3 mAb en pacientes mostró que la modificación genética de estos anticuerpos puede reducir sus efectos colaterales y prolongar sus efectos a largo plazo, sin necesidad de una inmunosupresión continuada.

Recientemente se ha publicado otro trabajo aleatorizado, comparativo con placebo y con un número mayor de pacientes (80 individuos con DM1 de comienzo reciente), con la administración del anticuerpo monoclonal anti-CD3 ChAglyCD3, que se administró en dosis de 8 mg/día durante 6 días consecutivos, observándose que la administración de estos anticuerpos monoclonales es capaz de preservar la función residual pancreática beta-insular al menos por un plazo de 18 meses, siendo su efecto especialmente positivo en aquellos pacientes en quienes la reserva insular inicial estaba por encima del percentil 50. La administración de estos anticuerpos monoclonales se acompañó de la aparición de un síndromeseudogripal y síntomas de mononucleosis Epstein-Barr, que aunque a veces fueron importantes siempre fueron transitorios. De los resultados de este trabajo se deducen dos importantes aspectos: el primero es la seguridad, considerando hasta qué punto pueden ser importantes los síntomas de síndromeseudogripal y de mononucleosis que la administración produce; el segundo aspecto es el hallazgo de que estos anticuerpos monoclonales son especialmente eficaces en pacientes con aceptable reserva pancreática, lo que plantea que este tratamiento podría mostrar espe-

cial utilidad en pacientes con LADA (diabetes mellitus autoinmune tardía del adulto) y en aquellos individuos con factores genéticos de riesgo para DM1 y marcadores inmunológicos positivos.

Interferón alfa

La administración oral de interferón alfa (IFN- α) ha sido estudiada en el tratamiento de la DM1, postulándose que su mecanismo de acción es mediante una expresión reducida de citocinas que tienen un efecto tóxico directo sobre la célula beta: IL-1, TNF- α (factor de necrosis tumoral alfa) e IFN- γ . El IFN- α oral previene pero no revierte la diabetes una vez que se ha desarrollado la hiperglucemia. En otros análisis, los resultados con IFN- α han sido conflictivos, habiéndose observado que la administración parenteral de IFN- α empeora el control de la diabetes en pacientes con DM1 y hepatitis C, precipitando incluso la aparición de cetoacidosis diabética.

En un pequeño estudio piloto realizado en 10 pacientes con DM1 tratados con 30.000 UI de IFN- α oral en el primer mes del diagnóstico de la diabetes, analizándose la reserva insular a través de la determinación de péptido C estimulado, se evidenció que 8 de esos 10 pacientes mostraban al menos un incremento del 30% de reserva insular en comparación con el inicio. No se observó, por otra parte, ninguna toxicidad.

Lisofilina

Está en marcha un pequeño estudio con lisofilina, un inmunomodulador que inhibe la diferenciación Th1 condicionando valores bajos de citocinas tipo 1: IFN- γ , IL-2 y TNF- α .

Inmunorregulación antígenoespecífica

Dada la facilidad con la que se prevenía la DM1 en el modelo de ratón NOD, se han desarrollado una serie de ensayos en humanos basados en terapias antigénicas. Estas estrategias terapéu-

ticas descansan en el conocimiento de que una respuesta hacia un antígeno está mediada por factores como la fuerza de la señal antigénica, la coestimulación y la elaboración de citocinas. Por tanto, modulando estos parámetros es posible desviar la respuesta patogénica al antígeno hacia una respuesta protectora, no patogénica. Además de modificar la intensidad de la señal antigénica al receptor de las células T, otros investigadores han administrado antígenos por vía oral, intranasal, o usando células progenitoras hematopoyéticas que modifiquen la presentación del antígeno o induzcan regulación inmune a los antígenos administrados. La identificación de antígenos específicos en la DM1 abrió la esperanza y la posibilidad de inducir tolerancia que pudiera inactivar las células T específicas reconocedoras de antígeno que pueden ser las células que desencadenen la respuesta inmunitaria.

Se han diseñado muchos ensayos basados en terapias antigénicas. En algunos, los resultados han sido negativos, o no se han podido confirmar los resultados del estudio piloto. Sin embargo, estos ensayos han fijado los criterios predictivos de la enfermedad y el propio diseño de estudio. En concreto, los ensayos se han realizado en el comienzo de la diabetes, siendo el objetivo primario la preservación de la secreción de C-péptido.

La capacidad para segregar C-péptido es un marcador de la función secretora residual de la célula beta, y se asocia a una mayor facilidad de tratamiento de la diabetes mellitus tipo 1a, lo que se traduce en un menor número de hipoglucemias, un mejor control metabólico y una reducción de complicaciones crónicas a largo plazo. Aunque algunos parámetros determinados pueden ser arbitrarios para cada estudio, la Immunology of Diabetes Society ha publicado un consenso para diseñar estudios de intervención, para comparar los resultados en el futuro (tabla 2). Veamos qué antígenos se han desarrollado.

Tabla 2. Guías de la Sociedad de Inmunología de la Diabetes para ensayos de intervención en fase I y II

- Diagnóstico: criterios de la ADA (Asociación Americana de Diabetes)
- Documentación: edad, género, estado puberal, historia familiar, glucemia plasmática, bicarbonato, cetoacidosis, pérdida de peso, poliuria, polidipsia, HbA1c, autoanticuepos contra-insulares, requerimiento insulínico y tiraje HLA
- Ensayos en fase I: sólo pueden incluir individuos ≥ 18 años
- Ensayos en fase II: pueden incluir individuos ≤ 35 años
- Los individuos han de tener uno o más autoanticuerpos: anti-GAD65, IA-2, ICA o antinsulina (si ha estado con insulina menos de dos semanas solamente, medidos con tests estandarizados)
- Test de Tolerancia a la Comida (*Mixta Mixed Meal Tolerante Test* [MMTT]) realizado inicialmente, con pico de C-péptido $\geq 0,2$ mmol/L
- Los ensayos han de incluir pacientes diagnosticados en un periodo comprendido entre 2 y 12 semanas previas al inicio del ensayo
- Los ensayos deben tener una duración ≥ 2 años
- Los ensayos han de ser aleatorizados, con la creación de un grupo placebo y doble ciego en las fases I y II
- Evaluar la secreción de C-péptido estimulada con MMTT trimestralmente, sin administrar insulina en la mañana, sólo si la glucemia basal está entre 4-11,1 mmol/L
- Evaluar los marcadores inmunológicos en función de los tipos HLA

Insulina

Hasta ahora la insulina ha sido el único autoantígeno que ha sido estudiado en grandes series de prevención. Además de su efecto metabólico, la inducción de las células T reguladoras también ha sido demostrada tras la administración subcutánea de insulina.

Cuando se administra subcutáneamente, altas dosis (que habitualmente inducen hipoglucemia) también retrasan el desarrollo de la enfermedad, pero ni la insulina subcutánea ni la oral previenen el desarrollo de insulinitis.

La insulina también se ha utilizado por otras vías, en concreto la oral o la intranasal. Pese a los resultados prometedores obtenidos en ratones, los resultados logrados en humanos con la insulina oral no fueron positivos y la administración oral de insulina (5 mg/día) no tuvo ningún efecto sobre la reserva pancreática endógena.

Se han considerado otras insulinas modificadas: se están realizando estudios de seguridad en humanos con la cadena B de la insulina. También se ha empleado una insulina modificada unida a la cadena B del cólera, que serviría como portadora para atravesar la mucosa (MCP: *mucosal carrier protein*), facilitando la absorción a través de la mucosa gastrointestinal, habiéndose evidenciado cierto grado de prevención en modelos animales.

GAD 65 (descarboxilasa del ácido glutámico)

El GAD ha sido administrado subcutánea, oral e intratímicamente.

La Asociación Americana de Diabetes presentó los resultados de un pequeño ensayo realizado con inyecciones subcutáneas de GAD65 en pacientes con LADA en una reunión del año 2002. No se evidenció toxicidad alguna en fase I ni tampoco se observaron síntomas neurológicos. Un reciente estudio en fase II también recoge que el tratamiento de pacientes LADA con GAD65 es seguro y puede ayudar a preservar la capacidad de secreción betainsular. Pero por las propias características inmunológicas de los pacientes con LADA, resulta difícil evaluar los resultados de cualquier terapia inmunológica en este grupo de pacientes.

Péptido ligando alterado (péptido B:9-23)

Es posible usar como diana terapéutica una población específica de células T autorreactivas, identificando el antígeno dominante para su activación y produciendo un péptido ligando alterado (APL) que bloquee o cambie la respuesta. Este APL sirve como reclamo; no se produce estimulación de las células T pa-

togénicas y puede generar células Th2 reguladoras. Uno de ellos es el péptido B:9-23.

La mayoría de los linfocitos T CD4 aislados de los islotes de ratones NOD reaccionan con la insulina y con el péptido insulínico B:9-23. Cuando se administra subcutáneamente en un adyuvante incompleto de Freund a las 4 semanas de edad en el ratón NOD, este péptido previene el 90% de progresión hacia diabetes.

A fin de evitar las limitaciones que presentaba (inducción de anticuerpos antinsulina, inducción de diabetes y anafilaxia), se ha usado un péptido B:9-23 en el que se ha introducido el aminoácido alanina en las posiciones 16 y 19. Este péptido modificado retiene la capacidad de retrasar el desarrollo de diabetes cuando se administra sin adyuvante a ratones NOD. Se observó que la vacunación de ratones NOD con el péptido ligando modificado basado en el autoantígeno inmunodominante de la cadena B de la insulina estimulaba la producción de interleucina 4 (IL-4) e interleucina 10 (IL-10), tanto al péptido alterado como al péptido nativo. Esa estimulación sugiere que la inmunización podía desviar una respuesta patogénica hacia una respuesta no patogénica. La producción de IL-4 puede crear una situación que favorezca el desarrollo de mecanismos efectores no patogénicos

En la actualidad, se está realizando un ensayo con este péptido en pacientes con diabetes de reciente comienzo. Hasta la fecha, no existe ninguna evidencia de toxicidad ni de reacciones alérgicas.

Protectores de la célula beta

Nicotinamida

Hace unos treinta años empezaron a aparecer datos en la bibliografía sobre la capacidad de la nicotinamida para prevenir la DM1. A pesar de que los resultados en animales no siempre fue-

ron concordantes, pronto se planteó la posibilidad de valorar su eficacia en humanos. El primer estudio piloto realizado en pacientes con DM1 de reciente comienzo constató que la nicotina-mida prolongaba la fase de remisión. Posteriormente, un meta-análisis de 10 estudios comparativos y aleatorizados realizados en pacientes diabéticos de nuevo comienzo demostró que la nicotinamida, cuando se administraba junto con insulina, mejoraba el control metabólico. Eso promovió el desarrollo de estudios de prevención entre familiares de riesgo, ya mencionados en otro capítulo: el Deutsche Nicotinamide Intervention Study in Germany y el European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial (ENDIT), cuyos resultados no han sido alentadores.

Reposo de la célula beta

Tras una serie de datos obtenidos en animales, en humanos también se constató que la terapia insulínica intensiva preservaba la secreción endógena de insulina y mejoraba el control metabólico. Así se comprobó que un grupo de individuos sometidos a la administración intravenosa de grandes cantidades de insulina durante dos semanas tras el diagnóstico de diabetes mostraban un mejor control metabólico y una mejor reserva insulínica residual que los pacientes sometidos exclusivamente a tratamiento insulínico convencional. Otro estudio más amplio consiguió demostrar resultados parecidos, de modo que cuando se administra insulina de manera intensificada a través de inyecciones subcutáneas en pacientes con diabetes manifiesta la reserva pancreática es mejor que con la administración convencional habitual. Todo ello condicionó la elaboración de una serie de estudios piloto donde se empleaba la insulina como profilaxis. Uno de los estudios más representativos fue el DPT-1, en el que durante el periodo de seguimiento de 3,7 años no se observó ninguna diferencia entre el grupo tratado y el no tratado, ni en relación con la aparición de diabetes ni tampoco con la reserva pancreática.

Terapia regenerativa

La DM1 puede considerarse una enfermedad que resulta de un desequilibrio entre una destrucción selectiva autoinmune de la célula beta y un proceso de regeneración de la propia célula beta. Esta situación plantea una cuestión importante: ¿es la regeneración de la célula beta en sí misma un determinante importante en la susceptibilidad para desarrollar la diabetes mellitus tipo 1?

Recientemente, se han desarrollado dos líneas de investigación para conocer los mecanismos que subyacen en el desarrollo y regeneración de la célula beta y los mecanismos implicados en la destrucción celular a través de células inmunológicas y citocinas proinflamatorias.

Es conocido que el PAX4 es un miembro de la familia de factores de transcripción que interviene en el desarrollo del páncreas endocrino, y se ha demostrado que es esencial para el desarrollo y la función de la célula beta.

Biason-Lauber et al. han proporcionado cierta evidencia de que una variante genómica del PAX4 está ligada al desarrollo de DM1, de manera que los pacientes con esta alteración tendrían un genotipo distinto del nucleótido A1168C en el PAX4. De este modo, el genotipo C/C es frecuente entre niños con DM1 (73%) y raro entre la población control (32%). Por el contrario, el genotipo A/C es frecuente entre controles (62%) e individuos con anticuerpos anticélula beta positivos pero sin diabetes (73,6%), pero raro entre pacientes con DM1 (17,5%). La combinación del PAX4A y PAX4C es funcionalmente más activa que la PAX4C sola (la variante diabetógena). Las células que expresan PAX4A y PAX4C presentan una proliferación más eficiente cuando se estimulan con glucosa, mientras que dicha capacidad de proliferación no la tienen aquellas células

que sólo expresan el PAX4C. Estos hallazgos podrían explicar que no todos los individuos que desarrollan autoinmunidad contra la célula beta desarrollan también una diabetes. El genotipo C/C del polimorfismo A1168C en el PAX4 podría ser un marcador capaz de ayudar a detectar a los individuos susceptibles de desarrollar diabetes. Estos hallazgos comportan una serie de implicaciones experimentales y clínicas en la DM1, como la consideración de la importancia de los factores de regeneración de la célula beta, el conocimiento de marcadores genéticos con valor pronóstico para desarrollar diabetes y el posible desarrollo de compuestos que incrementen la actividad del PAX4C con la finalidad de restaurar la capacidad regenerativa de la célula beta.

Por último, cabe señalar que son muchos los péptidos (Islet Neogenesis-Associated Protein [INGAP]), la exendina y GLP-1, que han demostrado una capacidad de neogénesis y regeneración de los islotes pancreáticos, lo que plantea la posibilidad de su uso cuando está en activo el proceso de destrucción inmunológica de la célula beta.

Resumen

Aunque cuando se diagnostica una DM1 existe una pérdida funcional significativa de la célula beta, aún puede existir una ventana terapéutica que nos permita retrasar o incluso revertir la progresión de la enfermedad. Los estudios clínicos iniciales han mostrado efectos beneficiosos a corto plazo, pero han sido limitados por la toxicidad de los fármacos, sus efectos secundarios, la necesidad de una inmunosupresión continuada, sus efectos no específicos sobre la función inmune y la ausencia de beneficios probados a largo plazo. Una intervención tardía en el proceso de la enfermedad, una dosificación inadecuada, una vía de administración incorrecta o la frecuencia de administración podrían ayudar a explicar los resultados negativos.

Es probable que nuevas estrategias de tratamiento actualmente en desarrollo proporcionen otras evidencias en los próximos años. El uso de nuevas moléculas que nos permitan hacer una terapia antigénica específica y el empleo de anticuerpos monoclonales con un aceptable grado de seguridad pueden abrirnos algunas expectativas futuras, sobre todo en determinados tipos de pacientes y en momentos más tempranos de la evolución inicial de la DM1

Por otro lado, dado que en el momento del diagnóstico de la DM1 ya existe una capacidad funcional limitada, es posible que como medida complementaria tengamos que utilizar medidas que aumenten la masa de células beta (incluso como el trasplante de islotes) y otras que fomenten la capacidad regenerativa de la célula beta, ya sea del propio islote, de células ductales pancreáticas o incluso de células de médula ósea.

Bibliografía

Ablamunits V, Elias D, Reshef T, Cohen IR. Islet T cells secreting IFN-gamma in NOD mouse diabetes: arrest by p277 peptide treatment. *J Autoimmun.* 1998; 11(1): 73-81.

Agardh CD, Corrado CM, Lethagen Å et al. Clinical evidence for safety of GAD65 immunomodulation in adult-onset autoimmune diabetes. *J Diabetes Complications.* (en prensa).

Allen HF, Klingensmith GJ, Jensen P et al. Effect of baccillus Calmett-Guérin vaccination on new-onset type 1 diabetes. A randomized clinical study. *Diabetes Care.* 1999; 22: 1.703-1.707.

Alleva DG, Gaur A, Jin L, Wegmann D, Gottlieb PA, Pahuja A et al. Immunological characterization and therapeutic activity of an altered-peptide ligand, NBI-6024, based on the immunodominant type 1 diabetes autoantigen insulin B-chain (9-23) peptide. *Diabetes.* 2002; 51(7): 2.126-2.134.

Bougneres PF, Landais P, Boisson C et al. Limited duration of remission of insulin dependency in children with recent overt type 1 diabetes treated with low-dose cyclosporine. *Diabetes.* 1990; 39: 1.264-1.272.

Brod SA, Atkinson M, Lavis VR et al. Ingested IFN- α preserves residual beta cell function in type 1 diabetes. *J Interferon Cytokine Res.* 2001; 21: 1.021-1.030.

Coutant R, Landais P, Rosino M et al. Low dose linomide in type 1 juvenile diabetes of recent onset: a randomised placebo-controlled double blind trial. *Diabetologia.* 1998; 41: 1.040-1.046.

Diabetes Prevention Trial-Type 1 Diabetes Study Group. Effects of insulin in relatives of patients with type 1 diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 2002; 346(22): 1.685-1.691.

Greenbaum CJ, Harrison LC. Guidelines for intervention trials in subjects with newly diagnosed type 1 diabetes. *Diabetes.* 2003; 52(5): 1.059-1.065.

Herold KC, Hagopian W, Auger JA, et al. Anti-CD3 monoclonal antibody in new-onset type 1 diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 2002; 346: 1.692-1.698.

Keymeulen B, Vandermeulebroucke E, Ziegler AG, Mathieu C, Kaufman L, Hale G et al. Insulin needs after CD3-antibody therapy in new-onset type 1 diabetes. *N Engl J Med.* 2005; 352: 2.598-2.608.

Lauber-Biason A, Boehm B, Lang-Muritano M, Gautier BR, Brun T, Wollheim CB, Schoenle EJ. Association of childhood type 1 diabetes mellitus with a variant of PAX4: possible link to beta cell regenerative capacity. *Diabetologia.* 2005; 48: 900-905.

Leiter EH, Von Herrath. Animal models have little to teach us about type 1 diabetes: 2. In opposition to this proposal. *Diabetologia.* 2004; 47: 1.657-1.660.

Pozzilli P, Browne PD, Kolb H. Meta-analysis of nicotinamide treatment in patients with recent-onset IDDM. The Nicotinamide Trialist. *Diabetes Care.* 1996; 19(12): 1.357-1.363.

Pozzilli P, Pitocco D, Vialli N et al. No effect of oral insulin on residual beta-cell function in recent-onset type 1 diabetes (the IMDIAB VII). IMDIAB Group. *Diabetologia.* 2000; 43: 1.000-1.004.

Raz I, Elias D, Avron A, Tamir M, Metzger M, Cohen IR. Beta-cell function in new-onset type 1 diabetes and immunomodulation with a heat-shock protein peptide (DiaPep277): a randomised, double-blind, phase II trial. *Lancet.* 2001; 358(9.295): 1.749-1.753.

Roep BO, Atkinson M. Animal models have little to teach us about type 1 diabetes: 1. In support of this proposal. *Diabetologia*. 2004; 47: 1.650-1.656.

The Eurodiab Substudy 2 Study Group. Vitamin D supplement in early childhood and risk for type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. The EURODIAB Substudy 2 Study Group. *Diabetologia*. 1999; 42(1): 51-54.

The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. Effect of intensive therapy on residual beta-cell function in patients with type 1 diabetes in the Diabetes Control and Complications Trial. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med*. 1998; 128(7): 517-523.

Tisch R, Wang B, Serreze DV. Induction of glutamic acid decarboxylase 65-specific Th2 cells and suppression of autoimmune diabetes at late stages of disease is epitope dependent. *J Immunol*. 1999; 163(3): 1.178-1.187.

«The accelerator hypothesis».

Jaque al concepto clásico de diabetes mellitus tipo 1

C. Fajardo, F. Piñón

Introducción

Clasificación de la diabetes mellitus

Clásicamente, la diabetes mellitus tipo 1 (DM1) se ha definido por su aparición en edades tempranas, inicio brusco y dependencia a la insulina, mientras que la tipo 2 (DM2) se ha definido como un trastorno metabólico que aparece en la edad media de la vida, de inicio lento y sin dependencia inicial a la insulina.

Sin embargo, estas definiciones han quedado obsoletas, ya que más de la mitad de los pacientes con DM1 son diagnosticados en la edad adulta, por lo que el inicio de la enfermedad es más lento y los pacientes no desarrollan acidosis ni requieren insulina por algún tiempo. Existe un subgrupo de pacientes con DM1 diagnosticados después de los 35-40 años de edad, y que suponen el 30% de los DM1 de reciente diagnóstico, que se caracterizan por presentar un mayor periodo sintomático antes del diagnóstico clínico, una mayor función residual de la célula beta, una menor frecuencia de autoanticuerpos y de heterocigotos HLA (*Human Leukocyte Antigen*) DR3/DR4, comparado con la DM1 de inicio en la infancia o adolescencia. Este tipo de diabetes se denomina LADA (*Late Autoimmune Diabetes in Adult*), y también se ha denominado diabetes latente y DM tipo 1 y 1/2 (porque quedaría

a mitad de camino entre la DM1 y la DM2). Parece que la LADA es una variante de lenta progresión a DM1 en el adulto, y se ha definido como aquella diabetes cuyos pacientes presentan positividad a GAD (*Glutamic Acid Decarboxylase antibodies*), con una edad de inicio mayor de 35 años, un menor índice de masa corporal (IMC) que los pacientes con DM2 y un estadio inicial en el que no necesitan inicialmente tratamiento con insulina (por lo menos durante 6 meses).

Además, la DM2 cada vez es más frecuente en adolescentes, iniciándose en algunos casos con cetoacidosis y precisando insulina durante algún tiempo. En algunos casos, sólo el paso del tiempo puede ayudar a diferenciar ambos tipos de diabetes. Cada vez es más frecuente encontrar en pacientes diagnosticados en la infancia la presencia de datos a favor de DM1 (cetoacidosis, autoinmunidad, etc.) y otros a favor de DM2 (obesidad, acantosis *nigricans*, historia familiar, etc.), siendo las implicaciones diferentes en función del diagnóstico asignado. Su evolución clínica con una mejoría de HbA_{1c} y cantidades suficientes de péptido C y mejoría del control metabólico podría representar una fase de remisión de DM1 o de DM2, pudiendo clasificarse inicialmente a estos pacientes como «atípicos» o «aún no aclarados».

En julio de 1997, la Asociación Americana de Diabetes (ADA) definía una nueva clasificación y criterios diagnósticos de la diabetes mellitus. En ella, la DM1 se subclasificaba por primera vez en autoinmune (1A) e idiopática (1B), mientras que no se modificaba la clasificación de la DM2. También se definían otros tipos específicos de DM.

Sin embargo, la mayoría de pacientes con DM1 presenta tras el diagnóstico de la enfermedad signos de autoinmunidad, y tan sólo el 5-10% de individuos no los presenta. Se ha sugerido que estos últimos podrían ser considerados como un subgrupo de

pacientes en los que la patogenia de la enfermedad fuese distinta. La biopsia pancreática realizada en estos individuos revela la ausencia de insulitis y de hiperexpresión de moléculas MHC (*human Major Histocompatibility Complex*) clase I en los islotes. Sin embargo, sí se aprecia un infiltrado linfocitario en el páncreas exocrino, que se refleja en elevadas concentraciones de enzimas pancreáticas en suero. La duración de los síntomas es más corta, lo que explica las cifras «casi» normales de hemoglobina glucosilada (HbA_{1c}). Aunque en la clasificación de la ADA no se relaciona la DM idiopática con HLA, sí se encuentran haplotipos HLA tanto predisponentes como protectores en este grupo de pacientes, lo que complica aún más la clasificación. Todavía se desconocen aspectos de este subtipo de DM1, ya que el escaso número de pacientes descrito en cada serie hace difícil comparar sus características clínicas respecto a los pacientes con DM1 autoinmune. También se han descrito las características clínicas, genéticas y de reserva pancreática de estos pacientes con diabetes tipo 1B en población mediterránea, no encontrando diferencias en la forma de presentación clínica, genotipo HLA-DR o función de célula beta en el debut de la enfermedad.

Etiopatogenia de la DM1

La destrucción autoinmune de las células beta del páncreas es la principal causa de DM1. A pesar de que el proceso se da generalmente en pacientes jóvenes, puede ocurrir a cualquier edad. Así, se estima que el 40% de los pacientes con DM1 es diagnosticado antes de los 15 años, mientras que un 30% lo es entre los 15-35 años y el 30% restante en mayores de 35.

Para el desarrollo de la DM1 es necesaria, inicialmente, una determinada susceptibilidad genética (mediada por alelos HLA) que, modulada por factores ambientales (factores perinatales, infecciones [fundamentalmente víricas] y proteínas de la dieta), conduce a alteraciones inmunológicas (positividad de anticuerpos) y metabólicas (figura 1). Finalmente, la diabetes clíni-

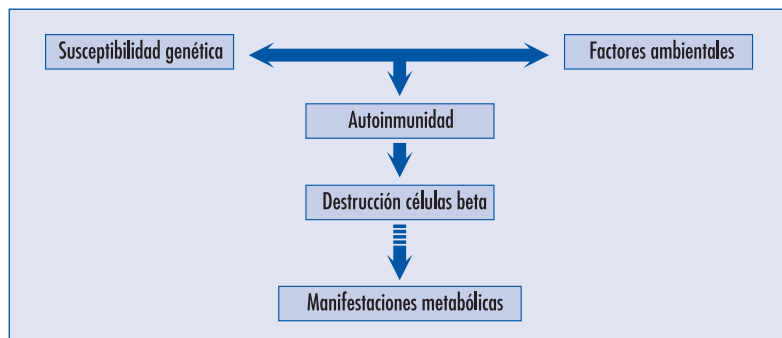


Figura 1. Factores implicados en la etiopatogenia clásica de la DM1

ca representa la completa e irreversible destrucción de las células beta funcionales. Hasta ahora, se creía que era necesaria la destrucción del 90% de la masa celular beta para que se manifestase la hiperglucemia. Se ha demostrado en babuinos que el empleo de estreptozotocina (tóxico para la célula beta) en dosis crecientes puede inducir la dependencia a la insulina cuando persiste el 30-50% de la masa celular beta. Se defiende el papel de la acción inhibitoria de las citocinas, liberadas por las células inflamatorias en los islotes, para explicar la desproporción entre la deficiencia de insulina y la persistencia de masa beta funcional. Por ello, la aparición de hiperglucemia no implica necesariamente la pérdida irreversible de casi toda la masa celular beta. Si se consigue detener el proceso autoinmune, incluso en este estadio «tardío» del inicio de la sintomatología podría recuperarse una parte sustancial de la función celular beta. Al iniciar el tratamiento con insulina y mejorar el control metabólico, se produce una mejoría de la función pancreática que se dobla en los primeros 7-14 días y alcanza los valores máximos a los 1-6 meses de iniciar el tratamiento, valores que disminuirán más tarde de forma progresiva. Los pacientes con concentraciones de péptido C más elevadas al inicio de la enfermedad mantienen una mayor reserva pancreática durante los 2 prime-

ros años de evolución, y la magnitud de la misma se correlaciona con la incidencia y grado de remisión. La definición de este periodo de remisión parcial, también conocido como «luna de miel», es algo arbitraria, y varía según la bibliografía y los estudios que se consulten (desde necesidades de insulina $<0,3$ U/kg/día hasta $<0,5$ U/kg/día, o incluso también menos del 50% de la dosis de insulina tras el alta después del diagnóstico).

El inicio de la DM1 suele estar precedido por la presencia de anticuerpos. Aunque estos anticuerpos constituyen la base del diagnóstico de la DM1 y de la identificación de personas con riesgo de desarrollarla (prediabetes), su significado en cuanto a la intensidad y evolución del proceso inflamatorio del islote pancreático (insulitis) y su repercusión sobre la función de las células beta aún está por dilucidar. Diversos estudios han mostrado resultados discordantes en cuanto a la capacidad pronóstica de los anticuerpos sobre la rapidez de destrucción de la población de células beta, y ello es debido a la inclusión de grupos heterogéneos de población tanto en edad como en tiempo de evolución de la diabetes.

Así, lo que conocemos como DM1 es una entidad heterogénea no sólo desde el punto de vista etiológico, sino también desde el punto de vista del espectro de su presentación clínica.

La DM2 se caracteriza por la combinación en grado variable de resistencia a la insulina y alteración de la secreción de insulina. El aspecto más controvertido en la patogenia de la DM2 es saber qué ocurre en primer lugar, si la insulinoresistencia o el defecto de la célula beta. La DM2 también presenta un periodo variable de prediabetes, que se define por un incremento de la ratio insulina/glucosa en ayunas y posteriormente por glucosuria o hiperglucemia en circunstancias que aumentan temporalmente la resistencia insulínica (p. ej., gestación, tirotoxicosis o empleo de glucocorticoides) y que se caracteriza por la pérdida

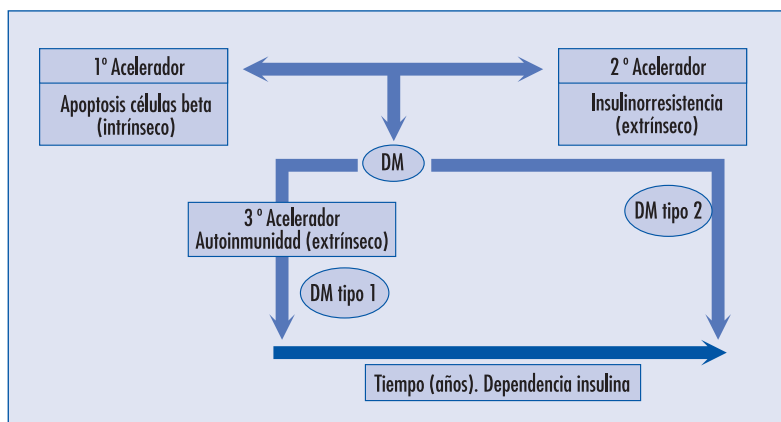


Figura 2. Representación gráfica de la hipótesis del acelerador

de la primera fase de respuesta de la insulina al test de tolerancia intravenosa de glucosa.

Hipótesis del acelerador

En el año 2001, Wilkin defiende por primera vez la hipótesis del acelerador, en la que se argumenta que la DM1 y la DM2 son una entidad única, diferenciándose por la tasa de pérdida de masa celular beta y por el acelerador responsable de esta pérdida.

El primer acelerador es la apoptosis de células beta, que es necesaria pero no suficiente para el desarrollo de DM. El segundo es la resistencia insulínica, que resulta del aumento de peso y de la inactividad física (que a su vez incrementa la tasa de apoptosis de células beta) y explicaría la incidencia creciente de DM1 y DM2 en los países occidentales. El último acelerador es la autoinmunidad frente a la célula beta. La actuación de estos autoanticuerpos en el caso de la llamada DM1 aceleraría la tasa de pérdida de masa celular y la aparición más temprana de dependencia a la insulina (figura 2).

De estos 3 aceleradores, sólo uno es intrínseco (apoptosis de células beta) y los otros 2 son adquiridos. En el caso del segundo acelerador, la resistencia insulínica, se asocia a la presencia de un aumento de la grasa visceral, lo que explicaría el aumento de incidencia tanto de DM2 como de DM1. El concepto de enlace etiológico entre ambos tipos de DM no es nuevo; sin embargo, en la actualidad existe mayor grado de evidencia para defenderla. Más que explicar un solapamiento entre ambos tipos de diabetes, la hipótesis del acelerador propone un mismo mecanismo, diferenciando la DM2 de la DM1 únicamente en la respuesta inmune.

Sólo el tiempo diferenciaría lo que clásicamente se consideraban 2 tipos de diabetes. Las tres fases en progresión a la diabetes clínica (prediabetes, diabetes química y diabetes clínica) pueden ser extrapoladas en ambos tipos de diabetes, diferenciándose tan sólo y sustancialmente, en algunos casos, en su duración relativa. Si no se tienen en cuenta estas diferencias en el tiempo, no se explicaría la necesidad de tratamiento insulínico desde el inicio de la DM1 y tras un largo periodo clínico en la DM2.

El fenómeno de la pérdida de la primera fase de secreción de insulina se atribuía clásicamente a la DM2, y no está claro si es una anomalía adquirida o intrínseca, que a pesar de ser necesaria no es suficiente para desarrollar DM2. Este aspecto es importante para unificar la hipótesis, ya que la pérdida de la primera fase de secreción de insulina también es una característica de la DM1, que es claramente adquirida.

Epidemiología de la diabetes mellitus

La tasa de incidencia de DM2 en el mundo occidental ha aumentado paralelamente a la de la obesidad. También la edad de presentación está bajando, al aumentar la tasa de DM2 en adolescentes. Este mismo patrón de incremento en la incidencia y menor edad de presentación también se ha dado en la

DM1 (aunque la mayoría de estudios se han realizado en población infantil y adolescente). Clásicamente, la incidencia de DM1 ha sido mayor alrededor de la pubertad. El pico más temprano en la mujer se relaciona con el hecho de que entra antes en la adolescencia. Los cambios hormonales de la pubertad, sobre todo el pico de GH, aumentan la demanda de producción de insulina, exigencia que los islotes ya lesionados no son capaces de cumplir. De nuevo, el IMC se incrementa rápidamente en la pubertad y con él la insulinoresistencia. La hipótesis del acelerador puede predecir la presentación cada vez más temprana, dado que el IMC previamente asociado a la pubertad cada vez se alcanza a edades más tempranas. Así, la curva de edad de inicio para DM1 ha cambiado para incluir cada vez a más jóvenes, perdiendo el pico peripuberal. El grupo de diabetes infantil finlandés defiende que un peso relativo $>120\%$ se asocia con un riesgo 2 veces mayor de desarrollar DM1. Esto apoya la hipótesis que defiende el papel central del IMC y su implicación para la insulinoresistencia en el desarrollo de DM 1 y 2.

Otros factores ambientales como la época del nacimiento, la lactancia artificial, etcétera, son controvertidos.

Apoptosis

La apoptosis es un proceso fisiológico que regula el metabolismo tisular y que es mantenido y controlado a lo largo de la vida. Persiste la controversia sobre si el fenómeno autoinmune en la DM1 es la causa de la lesión celular o la respuesta del organismo ante ésta. Hasta hace poco, no se consideraba que la apoptosis fuera capaz de inducir una respuesta autoinmune; sin embargo, estudios recientes defienden que las células apoptóticas pueden presentar antígenos autorreactivos al activar células dendríticas capaces de preparar células T citotóxicas específicas de tejido, induciendo la formación de autoanticuerpos. Además, se ha demostrado en modelos animales que la autoinmunidad puede estar desencadenada por oleadas de apoptosis in-

tensa durante el periodo neonatal temprano. Si la característica compartida por la DM1 y DM2 es intrínsecamente la apoptosis excesiva de células beta modulada por la insulinoresistencia, la diferencia entre ambas podría estar en el genotipo de respuesta autoinmune, que en la DM1 aceleraría la pérdida de masa celular beta. La apoptosis se da a lo largo de la vida con un tasa variable, que es intrínsecamente mayor en aquellos pacientes que son susceptibles de presentar diabetes.

Diferentes estudios en animales apoyan este fenómeno de apoptosis. En ratones Zucker obesos diabéticos (ZDF) y prediabéticos, la apoptosis está incrementada entre 3 y 7 veces. Los efectos de la hiperglucemia en la respuesta insulínica también se han estudiado en islotes de *Psamomomys*, donde la exposición mantenida a la hiperglucemia *in vivo* se asociaba a desintegración nuclear, a un mayor índice de apoptosis y a la pérdida irreversible de la secreción de insulina.

La proteína C reactiva y el fibrinógeno (reactantes de fase aguda) están aumentados en pacientes con DM2 y marcadores autoinmunes positivos (+12% en adultos). La tolerancia a la glucosa es peor y la necesidad de tratamiento mayor en el subgrupo autoinmune.

Entre las citocinas, el TNF- α (*Tumor Necrosis Factor α*) aumenta la resistencia insulínica del receptor y acelera la apoptosis de células beta. El TNF- α se libera en tejido graso visceral (no subcutáneo) y podría explicar el vínculo entre ganancia de peso, insulinoresistencia y diabetes. Por otro lado, la grasa visceral produce por lipólisis ácidos grasos libres que, además de sus acciones en el hígado (aumento de la gluconeogénesis, aumento en la producción de glucosa, disminución en la extracción de glucosa) y la masa muscular (disminución de la utilización de glucosa), que conllevan insulinoresistencia, aceleran la apoptosis de células beta en modelos con ratas, disminuyen-

do la secreción de insulina. Por tanto, la dieta podría modular la apoptosis celular.

No se pueden estudiar estos fenómenos en humanos. El UKP-DS estudió la función celular beta durante 6 años en unos 3.000 pacientes con DM2 que recibían tratamiento intensivo con sulfonilureas o insulina (las primeras estimulan, mientras que la segunda deja en reposo la célula beta). A pesar de ello, el control glucémico se deterioró en ambos grupos de forma similar, con pérdida progresiva de la respuesta insulínica medida con *clamp* glucémico. En Japón, se realizó un estudio aleatorizado comparando los efectos de la insulina con los de los antidiabéticos orales en un subgrupo de pacientes diabéticos de inicio en edad adulta con ICA (*Islet Cell Antibodies*) positivos. Los individuos que recibieron insulina mantenían durante más tiempo la función celular beta que los tratados con antidiabéticos orales, y perdían la exposición de ICA.

En conjunto, estas observaciones demuestran que la pérdida de células beta es intrínseca a todas las DM, inevitable e inexorable. La tasa de pérdida de células beta puede acelerarse por el estrés oxidativo de la hiperglucemia y la autoinmunidad, y ralentizado, pero sin vuelta a la normalidad, por el reposo de la célula beta.

Resistencia insulínica

Muchas teorías tienen en cuenta la insulinoresistencia (hipótesis del «genotipo» ahorrador, hipótesis del «fenotipo» ahorrador e hipótesis de la insulina fetal). Pero la insulinoresistencia adquirida por los cambios en el estilo de vida no puede explicarse sólo con la influencia genética o la experiencia gestacional para justificar el incremento reciente de DM y su aparición en edades más tempranas.

Es importante para la hipótesis del acelerador que los estudios realizados hace 20 años con *clamp* glucémico mostraran que los

pacientes con DM autoinmune eran insulinoresistentes como los DM2. Además, el incremento en la ratio proinsulina/insulina, que se considera marcador de resistencia a la insulina y de disfunción de la célula beta, se ha demostrado recientemente en DM1. La mayoría de los pacientes con DM2 con marcadores autoinmunes positivos se transforma más rápidamente en DM1 que aquellos con anticuerpos negativos, y todas estas observaciones apoyan de forma coherente los conceptos de continuidad y acelerador. Es un problema de tiempos. Todas las DM se asocian a insulinoresistencia (segundo acelerador), un subgrupo avanza más deprisa a la dependencia a la insulina como resultado de la autoinmunidad (tercer acelerador) y, si este subgrupo estuviera libre de autoanticuerpos, también desarrollaría DM aunque más tarde.

Susceptibilidad y riesgo

La DM2 afecta hasta al 30% de los individuos en algunas poblaciones. Se sabe que ambos tipos de DM están influenciados genéticamente, pero con distintos grados. Una teoría que ve a un tipo de DM como un subgrupo dentro de otra debe considerar sus diferencias genéticas.

La elevada concordancia familiar de DM2, un trastorno fuertemente asociado al IMC, puede adscribirse a la extendida prevalencia del primer gen acelerador, junto con la fuerte asociación familiar de obesidad. El primer gen acelerador podría responder al «genotipo ahorrador». Los genotipos de susceptibilidad están presentes en el 60% de los pacientes menores de 40 años y en el 70% de los menores de 5 años, mientras que también los presentan el 6% de los controles.

La susceptibilidad a DM1 se relaciona con un pequeño número relativamente infrecuente de polimorfismos. Aproximadamente el 50% de los casos de DM1 que debutan antes de los 16 años son heterocigotos para alelos *HLADQB*, que se encuentran juntos sólo en el 2% de la población general. Un estudio finlandés en jóvenes

varones con DM2 no mostró diferencias en la frecuencia de haplotipos asociados a DM con los asociados a DM1. Y dentro de los pacientes DM1 en nuestro grupo no se encontraban diferencias en los pacientes con DM1 en función de la presencia/ausencia de marcadores autoinmunes. Por lo tanto, la intolerancia a la glucosa, la DM2 y DM1 compartirían genes de susceptibilidad HLA. Según esto, el concepto de «overlay» de la hipótesis del acelerador podría predecir una mayor prevalencia de DM1 entre familiares de primer grado con DM2.

Autoinmunidad

La lesión autoinmune es un factor adicional, limitado por genotipo a un grupo minoritario de pacientes.

En los casos más agresivos, la autoinmunidad podría ser suficiente para causar diabetes por sí misma, aunque sería necesario un acelerador diferente a la insulinoresistencia para desencadenar el incremento de apoptosis que la provoca.

Respuestas a la hipótesis del acelerador

Cuando se propone una nueva hipótesis puede suscitar tres tipos de reacciones: 1) rechazo, cuando no se adapta a los conceptos patogénicos actuales o si algunos aspectos no quedan suficientemente demostrados; 2) aceptación entusiasta, cuando propone soluciones convincentes a cuestiones sobre la etiología que hasta el momento sólo provocaban desconcierto, o 3) interés con escepticismo. Probablemente esta última sea la opción más compartida entre los críticos que se enfrentan a la hipótesis del acelerador.

Epidemiología de la DM1

La epidemiología de la DM1 de inicio en la infancia (<15 años) se ha estudiado exhaustivamente, mientras que la de la DM1 de inicio en adultos jóvenes está pobremente analizada. Un estu-

dio multicéntrico en adultos jóvenes demostró que la ratio hombre/mujer es mayor de 1 y entre los 25-29 años superior a 1,5; al contrario de lo que ocurre en otras enfermedades autoinmunes, donde la ratio se invierte a favor del sexo femenino. Además, se ha demostrado que esta predisposición masculina es independiente de la presencia de autoanticuerpos o tipo de HLA, identificándose la edad como factor determinante en la ratio hombre/mujer, y sugiriéndose que la insulinoresistencia podría estar involucrada. Otros autores mantienen que en las poblaciones con elevada incidencia de DM1 esta mayor incidencia en hombres parece estar restringida a aquellos portadores de HLA-*DR3-X*, siendo X no *DR4*. En cambio, en edad pediátrica se observa un discreto predominio femenino: el pico de edad se encuentra entre los 8-14 años en niñas y 2 años más tarde en niños. Recientemente, se ha demostrado que los cambios en la pubertad pueden contribuir a acelerar el inicio de la DM1 en niñas susceptibles genéticamente. Este fenómeno parece estar mediado por la acción de los estrógenos sobre el promotor de IL-6 (interleucina 6). En función de este dato, se propone que los haplotipos de IL-6 en combinación con alelos y otros genes regulados por estrógenos podrían dar la clave sobre las diferencias de sexo observadas en la DM1.

La edad media del diagnóstico de DM2 en niños está en 12-14 años, lo que coincide con la resistencia insulínica relativa de la pubertad, que puede desencadenar intolerancia a la glucosa y DM. A veces, se clasifica erróneamente de DM1 a estos pacientes con DM2 en edad pediátrica, lo que supone una infravaloración de la prevalencia real de este problema. Es importante reconocer a aquellos con DM2 no conocida, ya que su diagnóstico precoz y el consecuente tratamiento retrasarán la aparición de complicaciones.

Es importante diferenciar entre incremento de riesgo de un proceso (aceleración real) y comienzo más temprano. La hipó-

tesis del acelerador predice un comienzo más temprano sin un incremento real en la incidencia. La escasez de registros nacionales que incluyan la incidencia de DM1 en niños y adultos jóvenes hace difícil aclarar algunos de estos aspectos. Sin embargo, los pocos disponibles (en Suecia y Bélgica) dan consistencia a la teoría de que el aumento de incidencia en niños es a expensas de disminuir la incidencia en adultos jóvenes, lo que corrobora una presentación más temprana de la enfermedad en lugar de un mayor riesgo mantenido en el tiempo. La obesidad infantil como epidemia en las sociedades avanzadas parece ser un buen candidato para explicar esta aceleración en la presentación clínica. Así, queda demostrado que la edad de presentación se correlaciona inversamente con el IMC. Los niños más obesos son los que desarrollan DM1 antes y además han sido más obesos en su etapa prediabética, quedando demostrado que el peso y el IMC en los niños con DM1 han aumentado en los últimos 20 años. También se ha descrito una mayor circunferencia de cintura en los pacientes con DM1, que no aumenta con la duración de la diabetes, lo que sugiere que ese aumento de grasa visceral precede a la DM1.

El incremento en la incidencia de DM1 en los países desarrollados ha ocurrido demasiado deprisa para ser explicado por cambios genéticos, por lo que deben estar implicados factores ambientales. Una explicación podría ser la de los cambios recientes en la composición de la dieta y una menor actividad física, factores que conllevan ganancia ponderal y un aumento de insulinoresistencia. Del mismo modo, el factor protector de la lactancia materna podría ser explicado por las diferencias en IMC entre aquellos niños alimentados con lactancia artificial o materna (esta última menos asociada a sobrepeso/obesidad). También se ha defendido que la insulinoresistencia esta más relacionada con el IMC en la infancia temprana, y no con el peso al nacer. Sin embargo, aunque inicialmente el peso al nacer sólo se había relacionado como un posible factor de riesgo para

DM1, en la población austriaca se ha demostrado que la incidencia de diabetes es mayor en aquellas regiones donde el IMC de los recién nacidos es mayor, demostrándose un gradiente este-oeste en el IMC justificado por distintos hábitos dietéticos y de estilo de vida, sin poder descartar la influencia de factores genéticos. Además, existen diferencias en la edad de presentación en los diferentes grupos étnicos que no podrían ser explicadas únicamente por el IMC.

Implicaciones en la clasificación de la diabetes mellitus tipo 1. Evolución de la función residual de la célula beta en función de marcadores autoinmunes

La clasificación de la DM1, probablemente provisional, debería redefinirse y considerar la presencia/ausencia de marcadores autoinmunes, ya que la denominación autoinmune/idiopática puede conllevar errores de interpretación. Actualmente, ya no se tiende a separar la DM1 en autoinmune o idiopática, sino que se habla de DM1 con anticuerpos positivos y anticuerpos negativos. La negatividad de los anticuerpos en el momento del diagnóstico no excluye la existencia de autoinmunidad, ya que podrían haberse negativizado en el periodo preclínico o estos anticuerpos no ser detectados por la poca sensibilidad de los test actuales. También podría existir una forma de destrucción de la célula beta mediada por mecanismos no autoinmunes. Así pues, la negatividad de anticuerpos no necesariamente refleja una forma de DM1 no autoinmune. Se podría especular si realmente existe este subtipo de diabetes o se trata de un cajón de sastre donde en un futuro se subclasificarán nuevos tipos de DM1. La hipótesis del acelerador no considera distintos subtipos de DM1, asumiendo que el acelerador es la autoinmunidad.

La obtención de un buen control glucémico al inicio de la DM1 es fundamental para preservar la secreción residual de insulina. Así, el tratamiento intensivo con insulina se ha demostrado eficaz para retrasar la pérdida de función beta y, a su vez, el

mantenimiento de una secreción residual de insulina facilita la optimización del control glucémico. En nuestra serie, las únicas variables relacionadas de forma significativa con el nivel de péptido C basal, al año del diagnóstico, fueron las necesidades de insulina (debut y año de evolución), péptido C basal y estimulado al debut e IMC. Además, la DM1 con anticuerpos positivos se caracterizaba por un mayor requerimiento de insulina en el momento del diagnóstico y una mayor prevalencia de otras enfermedades autoinmunes (14 frente a 0%), sin diferencias a nivel del péptido C, lo que reflejaría indirectamente una destrucción de células beta más importante. También se confirmó una excelente correlación negativa entre la secreción de péptido C y la dosis de insulina necesaria, tanto en el momento del diagnóstico como al año de evolución. Cuando se abordó el estudio de la evolución de la reserva pancreática, se encontró que, en el grupo que experimentaba incremento de péptido C basal al año, la única variable que se correlacionaba de forma positiva con la reserva pancreática era la edad. Esta relación entre péptido C y edad está bien establecida en la bibliografía, tanto en población infantil como en adultos jóvenes. Estudios previos realizados en nuestro grupo en el momento del diagnóstico ya mostraban en niños (<14 años) mayores necesidades de insulina y menor reserva pancreática, independientemente de variables inmunológicas, lo que señalaría que la edad predice mejor la destrucción de células beta que la presencia de autoinmunidad.

Coexistencia de apoptosis e insulinoresistencia

Se ha propuesto ampliar la hipótesis al resto de patologías que incrementan la carga metabólica de las células beta. Tanto en modelos animales como en pacientes humanos, se ha demostrado que aquellas condiciones que se caracterizan por mayores demandas metabólicas (pubertad, gestación, infecciones, estrés, etc.) se asocian a un riesgo mayor de DM1.

Existen datos *in vitro* que apoyarían el concepto de la apoptosis de las células beta como primer acelerador. La sobreexpresión de ciertos genes como el *bcl-2* podría proteger a las células beta frente a la lesión mediada por citocinas. También *GLP-1* y *GLP-2* provocarían resistencia a la apoptosis en las células con receptores de páncreas y tracto gastrointestinal respectivamente. Sería importante aclarar si la tasa de apoptosis de células beta contribuye de forma importante a la patogénesis de la diabetes o si la diabetes podría ocurrir independientemente de este acelerador.

La diabetes resulta de la combinación de un descenso de la función de la masa celular beta y de un incremento de la demanda metabólica. La contribución de cada uno de los factores y su intensidad puede variar en el tiempo y de paciente a paciente, dando lugar a un espectro clínico continuo delimitado por dos situaciones extremas; desde la destrucción beta fulminante mediada por anticuerpos en edades muy tempranas, hasta la obesidad mórbida en el paciente adulto con gran acumulación de grasa visceral e insulinoresistencia, pero sin una reducción importante de masa celular beta, siendo esta última situación reversible con pérdida de peso.

Según distintos autores, se confirmaría el IMC como factor de riesgo también para DM1. Múltiples estudios demuestran la asociación entre sobrepeso, marcadores autoinmunes y el riesgo de diabetes en niños prediabéticos o en grupos de riesgo. En EE.UU., hasta el 24% de pacientes con DM1 presentan sobrepeso/obesidad al inicio de la enfermedad.

Por otro lado, además de la edad, otro de los parámetros clínicos que mejor predice las necesidades de insulina es el IMC. Se ha descrito que el parámetro clínico que mejor predice la necesidad de insulina en los pacientes diabéticos entre 18-40 años de edad, en los primeros meses de evolución, es el IMC, demostrán-

dose en pacientes adultos jóvenes que por cada punto que aumenta el IMC disminuye un 45% el riesgo de precisar insulina.

Una de las críticas a la hipótesis sería la necesidad de aportar más datos para proporcionar una conexión más cercana entre la prevalencia de obesidad y la de DM1 y DM2. Para ello, esta censura se apoya en la ausencia de relación clara entre el incremento lineal de obesidad en la infancia y el incremento no lineal de DM1 en población finlandesa, y en el sesgo que supone la realización de estudios en DM2 en grupos étnicos específicos. Aunque por otro lado se valora el cambio que supone el vínculo entre obesidad e insulinoresistencia en la fisiopatología de algunos procesos, no sólo de la diabetes. También se reconoce que la hipótesis ganará terreno si los límites entre la DM1 y DM2 permanecen borrosos, y sobre todo si nuestras sociedades no son capaces de contener la creciente prevalencia de obesidad y sus consecuencias.

Susceptibilidad genética para diabetes mellitus

Aunque se ha defendido que la DM2 y DM1 compartirían genes de susceptibilidad HLA específicos, la hipótesis del acelerador no aclara la influencia de los diferentes alelos de riesgo en la velocidad de pérdida de masa celular beta.

La DM1 de inicio en edad adulta se caracteriza por una menor frecuencia de genotipo de alto riesgo HLA-*DQ2/DQ8*. Este genotipo es el acelerador genético más fuertemente asociado al inicio temprano de DM1, y con progresión más rápida a DM1 en hermanos con anticuerpos positivos.

Existen datos limitados y controvertidos sobre la influencia de varios alelos *DQB1* en las características clínicas de la DM1 (la mayoría de los trabajos realizados se han llevado a cabo en poblaciones menores de 14 años). Se ha defendido que HLA *DQB1* determina la heterogeneidad en las características clíni-

cas y autoinmunes de la DM1 en la población finlandesa infantil, y que aquellos pacientes con genotipo HLA *DQB1* protector presentan con mayor frecuencia cetoacidosis en el momento del diagnóstico y mayor título de ICA, no encontrándose diferencias en la dosis de insulina requerida entre los niños con diferentes genotipos *DQB1*. Cuando el efecto predisponente de los alelos de susceptibilidad *DQB1*0302* o *0201* está ausente, es necesario un ataque inmune especialmente agresivo para causar la enfermedad, desencadenando al mismo tiempo un mayor riesgo de descompensación metabólica severa.

La protección del haplotipo *DQB1*0602* es fuerte, pero no absoluta (odds ratio= 0,03), siendo más frecuente en pacientes con inicio clínico por encima de los 40 años. En nuestra población, el papel protector de *DQB1*0602* no es completo, dado que se presenta en el 8,8% de los pacientes y no se relaciona con un subgrupo de pacientes con mejor evolución de reserva pancreática o con ausencia de marcadores autoinmunes, aunque sí es cierto que el título y positividad de estos marcadores es menor.

Entre los factores ambientales, la presencia de un patrón estacional en el diagnóstico de la DM1 parece restringido a varones que carecen del genotipo de alto riesgo HLA-*DQ2/DQ8*, como ha sido demostrado en la población belga. Faltan estudios que identifiquen qué factores ambientales son los responsables.

Se han descrito discordancias entre alelos de riesgo y función residual de célula beta en población infantil y adulta, lo que sugiere que la interacción entre genotipos de alta predisposición y algunos factores ambientales podría variar en función de la edad, y que los haplotipos HLA de riesgo no sólo incrementan el riesgo de DM1, sino que también tienen un efecto sobre la tasa de progresión a la enfermedad clínica. En estudios realizados con hermanos gemelos, se demuestra que la edad en el momen-

to del diagnóstico de la DM1 está genéticamente determinada, pero, además de los alelos de riesgo HLA, otros factores genéticos son importantes para determinar el momento del inicio clínico de la enfermedad.

Autoinmunidad.

Controversias en el tercer acelerador

También se ha censurado que se considere a la autoinmunidad como un tercer acelerador, cuando realmente separaría la DM1 de la DM2, ya que tanto su fisiopatología como su historia natural serían diferentes.

La autoinmunidad continúa siendo un enigma. El inicio de la DM1 suele estar precedido por la presencia de anticuerpos. Aunque estos anticuerpos constituyen la base del diagnóstico de la DM1 y de la identificación de personas con riesgo a desarrollarla (prediabetes), su significado en cuanto a la intensidad y evolución del proceso inflamatorio del islote pancreático (insulitis), así como su repercusión sobre la función de las células beta, aún está por dilucidar. Estudios previos han mostrado resultados discordantes en cuanto a la capacidad pronóstica de los anticuerpos sobre la rapidez de destrucción de la población de células beta, y ello es debido a la inclusión de grupos heterogéneos de población tanto en edad como en tiempo de evolución de la diabetes.

Por otro lado, mientras la determinación global de autoanticuerpos puede servir como marcador de riesgo y posiblemente de pronóstico, es posible que éstos no se correlacionen con la patogénesis y la destrucción de la célula beta. Además, debe recordarse que los niveles de anticuerpos en el momento del diagnóstico no siempre reflejan su nivel en los años previos al inicio clínico. En nuestra serie, no se encontró una correlación positiva entre ese número de anticuerpos positivos y el nivel de péptido C. En este sentido, y sin individualizar a partir del tipo

de marcador autoinmune, se confirmaría que no existe relación entre la presencia de autoinmunidad y la gravedad de la lesión celular beta.

Respecto a la relación de cada uno de los marcadores autoinmunes de DM1 y la reserva pancreática, también se han detectado contradicciones en la bibliografía. La mayoría de los estudios que no confirman una correlación entre marcadores autoinmunes y secreción residual de insulina se ha realizado sobre población con edad media inferior a los 10 años, mientras que en aquellos que sí encuentran una relación positiva entre niveles de marcadores autoinmunes y destrucción de células beta, las edades medias son mayores.

Los anticuerpos podrían tener un significado diferente según sea la edad de inicio de la enfermedad, lo que explicaría las discrepancias en las relaciones entre anticuerpos y función beta encontradas en los diversos estudios. Una teoría que intentaría explicar porqué en los niños la presencia de autoanticuerpos no se asocia a menor reserva pancreática, sería la de que los niños tienen una fase prodrómica más corta, por lo que el proceso de destrucción de células beta está acelerado. Es posible que, en el momento del inicio clínico, la destrucción de la célula beta sea completa, y en ausencia de autoantígenos la respuesta del autoanticuerpo desaparezca.

La hipótesis propone que la hiperglucemia resultante de la insulinoresistencia aceleraría la apoptosis de células beta, aumentaría su metabolismo y las haría más inmunogénicas. Probablemente, el sistema inmunológico en autoinmunidad está lejos de la disfuncionalidad, respondiendo de forma más predecible y con mayor intensidad en aquellos individuos susceptibles genéticamente a la gran cantidad de antígenos liberados por los islotes. La diabetes de la infancia, que se caracteriza por ser fulminante, representa una situación extrema donde la destruc-

ción de las células beta está mediada por autoinmunidad sin la presencia de insulinoresistencia o en la que el acelerador (insulinoresistencia) es necesario, pero la respuesta autoinmune es más agresiva en jóvenes genéticamente predispuestos. Parece que esta última suposición explicaría mejor la disminución progresiva en la edad de presentación de la DM1, sin cambios en el riesgo a lo largo de la vida, y se relaciona con el mayor peso en este grupo. Para apoyar esta hipótesis, sería interesante que se respondiera a diferentes cuestiones como: «¿Qué ocurre en situaciones de inanición en humanos?», «¿qué ocurre en situaciones de desnutrición o sobrealimentación en ratones NOD o en ratas BB?»

En conclusión, la hipótesis del acelerador propone una explicación a los límites borrosos entre la DM1 y DM2, y aunque algunos aspectos quedan ampliamente demostrados, como la insulinoresistencia en la DM1, otros aspectos, como la necesidad de autoinmunidad como tercer acelerador y la interacción de los distintos genotipos de riesgo, quedarían por aclarar. Las implicaciones para la prevención de ambos tipos de diabetes son claras. Las intervenciones con cambios en estilo de vida serían apropiadas si la causa fundamental son los cambios de hábitos. Los programas de actividad física y de reducción de peso en familiares de primer grado de pacientes con DM1 con anticuerpos positivos han de demostrar si el inicio de la diabetes puede ser prevenida o retrasada, como sí se ha demostrado en el caso de la DM2. Si se reconoce que la DM1 representa una forma acelerada de desarrollo de DM2, las estrategias de prevención deberían cambiar y tener en cuenta la insulinoresistencia. Estos datos darían validez a ensayos clínicos con metformina o glitazonas para reducir la insulinoresistencia en la prevención de la DM1. Por otro lado, faltaría conocer si estos ensayos clínicos, además de demostrar la mejoría de la insulinoresistencia, son capaces de demostrar un retraso en la respuesta autoinmune.

Bibliografía

Aguilera E, Casamitjana R, Ercilla G, Oriola J, Gomis R, Conget I. Adult-onset atypical (type 1) diabetes: additional insights and differences with type 1A diabetes in European Mediterranean population. *Diabetes Care*. 2004; 27: 1.108-1.114.

Aguilera E, Recasens M, Morinigo RA, Casamitjana R, Oriola J, Ercilla G, Conget I. Clinical, metabolic, immunologic and genotypic characteristics in non-paediatric patients with type 1 diabetes mellitus. Onset and short term prognosis. *Med Clin. (Barc)* 2003; 120: 121-124.

Betts P, Mulligan J, Ward P, Smith B, Wilkin T. Increasing body weight predicts earlier onset of insulin-dependent diabetes in childhood: testing the «accelerator hypothesis». *Diabet Med*. 2005; 22(2): 144-151.

Daneman D. Is the accelerator hypothesis worthy of our attention? *Diabetic Medicine*. 2005; 22: 115-117.

Decochez K, Keymeulen B, Somers G, Dorchy H, De Leeuw IH, Mathieu C et al. Use of an islet cell assay to identify type 1 diabetic patients with rapid decrease in C-peptide levels after clinical onset. *Diabetes Care*. 2000; 23: 1.072-1.078.

Fajardo C, Piñón F, Carmona E, Sánchez-Cuenca JM, Merino JF, Carles C. Influence of age on clinical and immunological characteristics of newly diagnosed type 1 diabetic patients. *Acta Diabetol*. 2001; 38: 31-36.

Fajardo C. Evolución de la secreción residual de insulina en diabetes mellitus tipo 1 y su relación con marcadores autoinmunes y genéticos. Tesis doctoral. Facultad de Medicina de Valencia, 2002.

Gillespie KM, Nolsoe R, Betin VM, Kristiansen OP, Bingley PJ, Mandrup-Poulsen T, Gale EA. Is puberty an accelerator of type 1 in IL6-174CC females? *Diabetes*. 2005; 54: 1.245-1.248.

Gorus FK, Weets I, Pipeleers DG. En: TJ Wilkin, 2001; The accelerator hypothesis: weight gain as the missing link between type I and type II diabetes. *Diabetologia*. 2002; 45(2): 288-289.

Graham J, Hagopian WA, Kockum I, Li LS, Sanjeevi CB, Lowe RM et al. Genetic effects on age-dependent onset and islet cell autoantibody markers in type 1 diabetes. *Diabetes*. 2002; 51: 1.346-1.355.

Guerrero F, Ortego J, Córdoba JA, Giron JA, Freire JM, Aguilar M. Clinical parameters (body mass index and age) are the best predictors for the

need of insulin therapy during the first 18 months of diabetes mellitus in young adult patients. *Horm Metab Res.* 2000; 32: 185-189.

Imagawa A, Hanafusa T, Miyagawa J, Matsuzama Y. A novel subtype of type 1 diabetes mellitus characterized by a rapid onset and an absence of diabetes-related antibodies. Osaka IDDM Study Group. *N Engl J Med.* 2000; 342: 301-307.

Imagawa A, Hanafusa T, Miyagawa J, Matsuzama Y. A proposal of three distinct subtypes of type 1 diabetes mellitus based on clinical and pathological evidence. *Ann Med.* 2000; 32: 539-543.

Kibirige M, Metcalaf B, Renuka R, Wilkin TJ. Testing the accelerator hypothesis: the relationship between body mass and age at diagnosis of type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2003; 26(10): 2.865-2.870.

Komulainen J, Knip M, Sabbah E, Vahasalo P, Lounamaa R, Akerblom HK et al. Autoimmune and clinical characteristics of type 1 diabetes in children with different genetic risk loads defined by HLA-DQB1 alleles. *Clin Sci. (Lond)* 1998; 94: 263-269.

Leslie RD, Delli Castelli M. Age-dependent influences on origins of autoimmune diabetes: evidence and implications. *Diabetes.* 2004; 53: 3.033-3.040.

Porter JR, Barret TG. Braking the accelerator hypothesis? *Diabetologia.* 2004; 47(2): 614-621.

Sobngwi E, Gautier JF. Adult onset idiopathic type 1 or ketosis-prone type 2 diabetes: evidence to revisit diabetes classification. *Diabetologia.* 2002; 45: 283-285.

The 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: 1.183-1.197.

Waldhör T, Scober E, Rami B, y el Austrian Diabetes Incidence Study Group. Regional distribution of risk for childhood diabetes in Austria and possible association with body mass index. *Eur J Pediatr.* 2003; 162: 380-384.

Weets I, Kaufman L, Van der Auwera B, Crenier L, Rooman RPA, De Block C, Casteels K, Weber E, Coeckelberghs M, Laron K, Pipeleers DG, Gorus FK. The Belgian Diabetes Registry. Seasonality in clinical onset of type 1 diabetes in Belgian patients above the age of 10 years is restricted to

HLA-DQ2/DQ8-negatives males, which explains the male to female excess in incidence. *Diabetologia*. 2004; 47: 614-621.

Weets I, Van Autreve J, Van der Auwera BJ, Schuit FC, Du Caju MV, Decochez K et al; Belgian Diabetes Registry. Male-to-female excess in diabetes diagnosed in early adulthood is not specific for the immune-mediated form nor is it HLA-DQ restricted: possible relation to increased body mass index. *Diabetologia*. 2001; 44: 40-47.

Wilkin TJ. The accelerator hypothesis: weight gain as the missing link between type 1 and type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2001; 44(7): 914-922.

Wilkin TJ. Diabetes mellitus: type 1 or type 2? The accelerator hypothesis. *J Pediatr*. 2002; 141(3): 449-450.

Índice alfabético de materias

A

Ácido aspártico, posición
57, 14
Anti-CD3, ChAglyCD3, 73
– mAb, 71, 73
– – Fc-mutados, 72
Anti-IAA (Insulin Auto-
Antibodies), 54
Anti-IA2 (Insulinoma-
Associated Antigen 2), 54
Anticuerpos monoclonales,
anti-receptor IL-2 (anti-
CD25), 70
APC (Antigen Presentation
Cell), 35, 37
Apoptosis, 92, 100
– células beta, 91
Arginina, posición 52, cadena
alfa, molécula *DQ*, 15
Autoantígenos células beta
reconocidos, 41
Autoinmunidad, 96, 104
Azatioprina, 68

B

BB (BioBreeding-Prone Rat),
30
BCG (Bacilo Calmette-
Guérin), 70

C

Células beta, 99, 110
– – pancreáticas, 45
– – reposo, 79
– presentadoras antígeno,
iniciación DM1, 37
– T, 10
ChAglyCD3, 72
Ciclosporina A, 68
Clasificación diabetes
mellitus tipo 1, 99
CTLA-4 (Cytotoxic T
Lymphocyte
antigen 4), 17

D

DAISY (Diabetes Autoimmune Study). 12

DENIS (Deutsche Nicotinamide Intervention Study), 58

Diabetes mellitus tipo 1, 1, 51, 67, 86

— — — 1A (autoimmune), 5, 86

— — — 1B (idiopática), 86, 87

DIPP (Type 1 Diabetes Prediction Prevention Project), 8, 58

DM1 (Diabetes Mellitus tipo 1), 5, 51

— epidemiología, 96

— genes región HLA, 11

— inmunosupresores amplio espectro, 68

DPT-1 (Diabetes Prevention Trial-Type 1 Study Group), 56

*DQA1*0301-DQB1*0302* (llamado *DQ8*) alelos *DRB1*0401*, 11

*DQA1*0301-DQB1*0302* (llamado *DQ8*) alelos *DRB1*0401*, ligamiento, *DR4*, 11

*DQA1*0501-DQB1*0201* (llamado *DQ2*) alelos *DRB1*0301*, 11

*DQA1*0501-DQB1*0201* (llamado *DQ2*) alelos

*DRB1*0301*, ligamiento *DR3*, 11

DR3-DQ2/DR4-DQ8, 11

E

Ecovirus 6, 8

ENDIT (European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial), 59

Enterovirus, 8

Exendina, 81

F

Factores ambientales, 10, 53

— genéticos, 7

G

GAD (Glutamic Acid Decarboxylase), 8, 42, 54

GAD, 65, 19, 77

Globulina antitimocito, 68

GLP-1, 81

Glucocorticoides, 68

Glucotoxicidad, 10

H

Hipótesis acelerador, 90
 – higiene, 6, 8
 HLA (Human Leucocyte Antigen), 6
 – clase 2, *DR4*, *DR3*, 11
 – moléculas, 14
 hOKT3 γ 1(Ala-Ala), 72
 HSP60 (Heat Shock Protein 60), 42, 71

I

IA-2, 42
 IA-2/ICA512, 19
 ICA (Islet Cell Antibodies), 19, 54
 ICAM-1, 37
 Idd1, 29
 IDDM1, gen región HLA, 11
 IDDM2, gen insulina, 15
 IDDM4 (*D11S987*), 16
 IDDM9 (*D3S1267*), 17
 IDDM12 *locus*, antígeno asociado, 17
 IDDM17 (*D10S554*), 17
 IDDM18, *locus*, 17
 IFN- γ , 37
 IGRP (Islet-Specific Glucose-6-Phosphatase Catalytic Subunit-Related Protein), 42

IL-2, 37
 IL-4, 37
 IL-6, 37
 IL-10, 37
 IL-12, 37
 INGAP (Islet Neogenesis-Associated Protein), 81
 Insulina, 76
 – estudios DPT-1, 55
 – resistencia, 91, 94, 100
 Interferón alfa, 74

L

LADA (Latent Autoimmune Diabetes Adults), 5, 10, 85
 LETL (Long Evans Tokushima Lean), 31
 LEW.IARI/Ztm-iddm, modelo rata, 32
 Linfocitos B, 40
 – T CD4+, 35, 44
 – – CD4+/CD25, 43
 – – CD8+, 44
 – – mediadores lesión celular, 32
 – – NK (Natural Killer), 43
 Linomida, 71
 Lipoproteína baja densidad, 16
 Lisofilina, 74

M

Macrófagos, 40

Marcadores autoinmunes,
99

– inmunológicos:

autoanticuerpos antislote,
18

– metabólicos: disminución
función células beta, 20

Metotrexato, 68

MHC (Major
Histocompatibility
Complex), 8

MIP-1 α , 37

MMF (Mofetil Micofenolato),
70

Moléculas clase I, 15

– HLA, 14

N

Nicotinamida, 78

– estudios DENIT, ENDIT, 58

NOD (Non-Obese Diabetic
Mouse), 51

P

PAX4, 80

Péptido C, 20

– ligando alterado (péptido
B:9-23), 77

– p277, 71

Protección células beta, 53

R

Rata BB, 30

– LEW.IARI/Ztm-iddm,
modelo, 32

Ratones ZDF, 93

Respuesta inmune Th2, 9

S

Sirolimus (rapamicina), 70

Sistema inmunitario, 53

Susceptibilidad genética, 102

T

T CD4+, 33

– – reactivo, 34

T CD8+, 33

– – citotóxico, 34

– – reactivo, 34

Tercer acelerador, 104

TGF- α , 37

TGF- β , 37

TIDGC (Consortio
Internacional Genética
Diabetes Tipo 1), 18
TNF- α (Tumor Necrosis
Factor α), 93
Transcripción factor NF-
kappaB, 39
TRIGR (Trial Reduce IDDM
Genetically Risk), 7, 59, 60

U

UKP-DS, 94

V

Virus Coxackie, 8
– – B, 8
Vitamina D, 70
VNTR (Variable Number
Tandem Repeats, 15

Z

ZDF, ratones (Zucker Diabetic
Fat), 93

