

XIV Jornada de Diabetes en el Niño y el Adolescente de la SEEP

VII Avances en Diabetes del Niño y el Adolescente



Libro de Abstracts

Madrid, 28 de febrero 2009



SOCIEDAD ESPAÑOLA
DE ENDOCRINOLOGÍA
PEDIÁTRICA
(Sección de la A.E.P.)



Comité Organizador

Dra. Beatriz García Cuartero
Dra. Amparo González Vergaz
Dra. Pilar Gutiérrez Díaz
Dra. M^a Jesús Ceñal González-Fierro
Dr. Joaquín Ramírez Hernández
Dr. José Luis Rubial Francisco
Dra. M^a José Alcázar Villar

Comité Científico

Dra. Raquel Barrio Castellanos
Dra. Beatriz García Cuartero
Dra. Ana Lucía Gómez Gila
Dra. Isabel González Casado
Dra. Florinda Hermoso López
Dra. M^a José López García
Dra. Cristina Luzuriaga Tomás
Dra. Miren Oyarzábal Irigoyen
Dra. Itxaso Rica Etxebarria
Dra. Mercedes Rodríguez Rigual
Dra. Marisa Torres Lacruz

Junta Directiva de la SEEP

Presidente: Dr. Juan Pedro López Sigüero
Secretaría General: Dra. Lidia Castro Feijóo
Tesorero: Dr. Luis F. López-Canti Morales
Vocales: Dr. Rafael Ruiz Cano
Dra. Sofía Quintero
Dra. Beatriz García Cuartero

Entidad Colaboradora

Novo Nordisk Pharma, S.A.

Ponentes y Moderadores

Dra. Raquel Barrio Castellanos

Hospital Ramón y Cajal. Madrid

Dra. Rosa Corcoy

Hospital de la Santa Creu I Sant Pau. Barcelona

Prof. Dr. Med. Jörg Dötsch

Universitätsklinikum Erlangen. Alemania

Dra. Ana Lucía Gómez Gila

Hospital Virgen del Rocío. Sevilla

Dra. Isabel González Casado

Hospital Infantil La Paz. Madrid

Dra. Florinda Hermoso López

Hospital Clínico Universitario. Valladolid

Dra. M^a José López García

Hospital Clínico Universitario. Valencia

Dra. Cristina Luzuriaga Tomás

Hospital Marqués de Valdecilla. Santander

Dra. Miren Oyarzábal Irigoyen

Hospital Virgen del Camino. Pamplona

César C. Palerm, Ph. D.

Principal Scientist–Medtronic Diabetes. Northridge, CA.

Dra. Itxaso Rica Etxebarria

Hospital de Cruces. Baracaldo

Dr. Enrique Roche Collado

Universidad Miguel Hernández. Alicante

Dra. Mercedes Rodríguez Rigual

Hospital Miguel Servet. Zaragoza

Dra. Marisa Torres Lacruz

Hospital San Juan de Dios. Barcelona

Dra. Ana Wagner Fahlin

Hospital Universitario Insular. Las Palmas de Gran Canaria



Programa Científico

Sabado, **28** de febrero

09:00 h: Inauguración

09:30 h: **Mesa redonda: Etiopatogenia**

Moderadoras: *Dra. Ana Gómez Gila, Dra. Miren Oyarzabal*

- 1. Red Europea de Genética de la Diabetes Mellitus tipo 1 (ET1DGN): Situación actual.**
Dra. Ana Wägner Fahlin
- 2. Gestación diabética: repercusión sobre el feto y recién nacido**
Dra. Rosa Corcoy
- 3. Terapia celular ¿Dónde estamos?**
Dr. Enrique Roche Collado

11:30 h: Pausa-café

12:00 h: **Conferencia**

Moderadora: *Dra. Cristina Luzuriaga*

Programación fetal y su implicación en enfermedades futuras
Dr. Jörg Dötsch

13:30 h: Comida de trabajo

16:00 h: **Mesa Redonda. Avances en el tratamiento**

Moderadoras: *Dra. Florinda Hermoso, Dra. Isabel González*

- 1. Defectos genéticos de la acción de la insulina: situación actual**
Dra. Raquel Barrio
- 2. Enfoque diagnóstico y tratamiento de los defectos genéticos de la función de la célula beta en los primeros meses de vida.**
Dra. Itxaso Rica
- 3. Impacto de los sistemas de monitorización de glucosa en el tratamiento intensivo con insulina**
Dra. Marisa Torres

17:30 h: Pausa-café

18:00 h: **Conferencia**

Moderadora: *Dra. Mercedes Rodríguez Rigual*

Sistemas de asa cerrada: presente y futuro
Dr. César Palerm

19:00 h: Clausura de la Jornada



Índice

Mesa Redonda: Etiopatogenia

- 1. Red Europea de Genética de la Diabetes Mellitus tipo 1 (ET1DGN):
Situación actual. 5
Dra. Ana Wagner Fahlin
- 2. Gestaci3n diab3tica: repercusi3n sobre el feto y reci3n nacido 9
Dra. Rosa Corcoy
- 3. Terapia celular D3nde estamos? 17
Dr. Enrique Roche Collado

Conferencia

- Programaci3n fetal y su implicaci3n en enfermedades futuras 24
Dr. J3rg D3tsch

Mesa Redonda: Avances en el tratamiento

- 1. Síndromes gen3ticos asociados con insulino resistencia grave 28
Dra. Raquel Barrio
- 2. Enfoque diagn3stico y tratamiento de los defectos gen3ticos de la funci3n de la c3lula beta en los primeros meses de vida 36
Dra. Itxaso Rica
- 3. Impacto de los sistemas de monitorizaci3n de glucosa en el tratamiento intensivo con insulina 48
Dra. Marisa Torres

Conferencia

- Diabetes & technology: toward an "artificial pancreas" 54
Dr. C3sar Palerm

RED EUROPEA DE GENÉTICA DE LA DIABETES TIPO 1 (ET1DGN). SITUACIÓN ACTUAL

Ana María Wägner en nombre de la Red Española de Genética de la Diabetes Tipo 1, ET1DGN y el Consorcio Internacional de Genética de la Diabetes Tipo 1*

S. de Endocrinología. Hospital Insular de Gran Canaria. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria
* *Francisco Javier Ampudia*, Hospital Clínico de Valencia. *Jesús Argente*, Hospital Niño Jesús, Madrid. *Luis Castaño*, Hospital de Cruces, Baracaldo. *Raquel Corripio*, Consorci Hospitalari Parc Taulí, Sabadell. *Mercè Fernández*, Hospital Trueta, Girona. *Beatriz García Cuartero*, Hospital Severo Ochoa, Leganés. *Concepción García Lacalle*, Hospital Severo Ochoa, Leganés. *Pilar Gutiérrez*, Hospital Universitario de Getafe. *Marta Hernández*, Hospital Arnau de Vilanova, Lleida y Hospital Universitario de Canarias, Sta Cruz de Tenerife. *Alberto de Leiva*, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona. *Dídac Mauricio*, Hospital Arnau de Vilanova, Lleida y Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona. *Francisco Javier Nóvoa*, Hospital Universitario Insular de Gran Canaria. *Teresa Pedro*, Hospital Clínico de Valencia. *Mercedes Rigla*, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona. *María Jesús Rodríguez*, Hospital Universitario Insular de Gran Canaria. *Mercedes Rodríguez*, Hospital Miguel Servet, Zaragoza. *Ángelo Santana*, Departamento de Matemáticas. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. *Federico Vázquez*, Hospital de Cruces, Baracaldo. *Ana María Wägner*, Hospital Universitario Insular de Gran Canaria and Steno Diabetes Center, Denmark

La diabetes tipo 1 (DM1) es una enfermedad crónica autoinmune, caracterizada por una pérdida selectiva de las células β en los islotes pancreáticos. La susceptibilidad a la enfermedad viene determinada por interacciones complejas entre factores ambientales y genéticos. Éstos últimos han sido evaluados previamente en múltiples estudios de asociación y ligamiento. El complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) explica aproximadamente un 50% del riesgo genético de la enfermedad, aunque también existen otros múltiples genes que confieren un riesgo moderado, sobre cuya importancia había poco consenso hace unos 5 años. De hecho, únicamente existía acuerdo sobre la asociación de la DM1 con el CMH (IDDM1), con el gen de la insulina (INS-IDDM2) y con el gen del antígeno 4 del linfocito T citotóxico (CTLA4). No obstante, los estudios estaban limitados por el tamaño de muestra y tampoco existía la tecnología actual que permite analizar múltiples variantes genéticas simultáneamente a un coste aceptable.

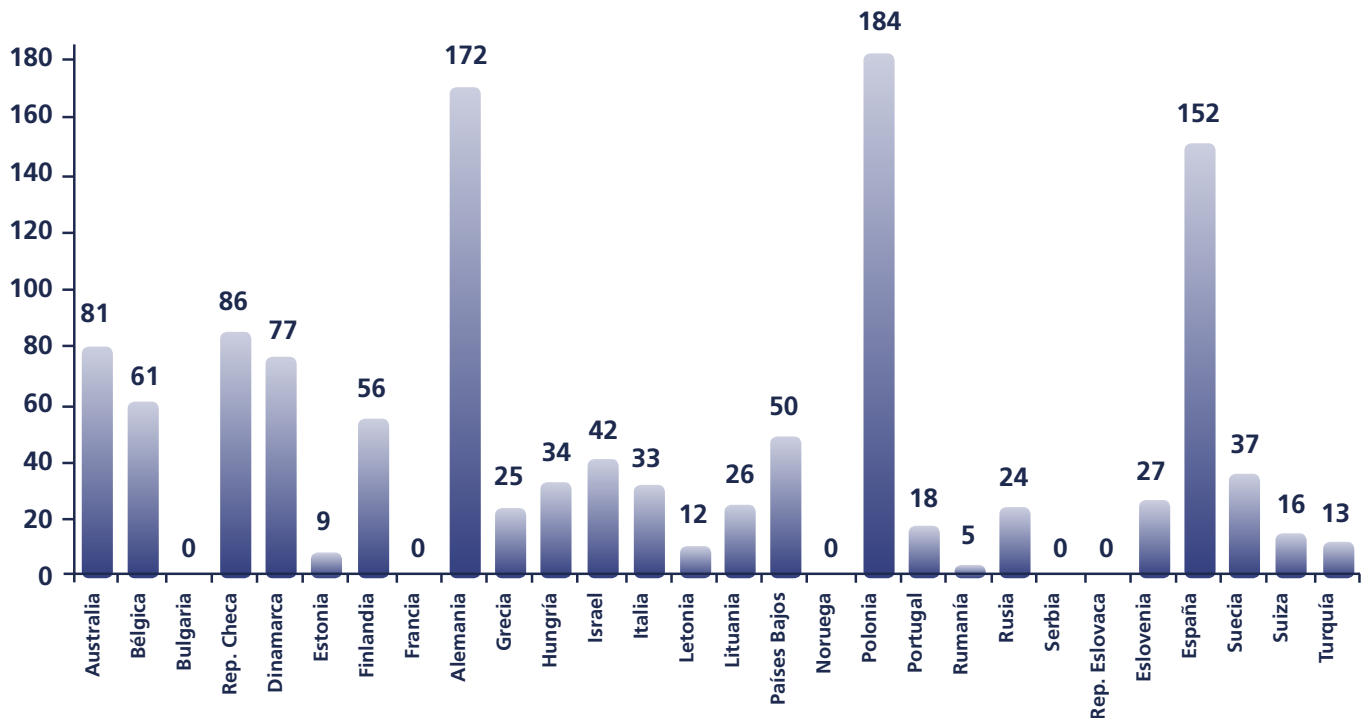
El Consorcio Internacional de Genética de la Diabetes Tipo 1 (T1DGC) nació con el objeto de poner en común el esfuerzo de los investigadores interesados en la genética y en la patogenia de la DM1. Se calculó que para identificar genes con un "riesgo genético" similar al de INS, se necesitaban, al menos, un total de 4300 parejas de hermanos afectados de la enfermedad. Esto quería decir que, teniendo en cuenta las colecciones provenientes de estudios previos, el T1DGC debía aportar 2800 familias adicionales y 1200 debían ser europeas.

De cada familia se invitaba a participar a todos los hermanos afectados (al menos 2), a los padres y a hasta 2 hermanos no afectados. De todos los participantes se obtuvo información clínica y muestras de sangre. De ésta se extrajo el DNA y se han realizado múltiples genotipados: HLA, INS, CTLA4, barrido genómico con 6000 SNP, mapeado fino de la región del CMH y estudios de replicación de múltiples genes previamente relacionados con la diabetes tipo 1. También se han creado líneas celulares a partir de las células blancas de sangre periférica, con el fin de obtener una fuente inagotable de DNA y así realizar nuevos análisis en el futuro sin necesidad de obtener muestras adicionales. Asimismo, a los hermanos afectados, se les han medido los anticuerpos anti-GAD y anti-IA2. Se han almacenado suero y plasma congelados que, al igual que las muestras de DNA y las líneas celulares, se han puesto a disposición de la comunidad científica para su análisis.

Actualmente hay múltiples análisis en marcha que están poniendo de manifiesto nuevos genes relacionados con la diabetes y confirmando otros ya conocidos. Además, para procesar esta ingente cantidad de información se están desarrollando nuevas herramientas bioinformáticas. En este momento existen 44 alelos de riesgo confirmados fuera del complejo mayor

de histocompatibilidad. La mayoría de estos incrementan el riesgo de DM1 en un 10-20% y están relacionados con la respuesta inmune o con la producción de insulina. Se puede acceder a la información actualizada sobre estos genes en www.t1dbase.org.

La red Europea de Genética de la Diabetes tipo 1 (ET1DGN) es la rama europea del consorcio. Comprende más de 100 centros en 28 países. Entre 2004 y 2008 se han incluido algo más de 1200 familias con al menos 2 hermanos con diabetes tipo 1 procedentes de 23 países distintos, 152 de ellas en España (ver figura).



Los sujetos afectados de las familias españolas tenían una edad media al debut de $14,4 \pm 8,7$ (1-42) años, un 19,2% tiene alguna enfermedad autoinmune asociada, un 57,3% son positivos para anti-GAD, un 35,5% para anti-IA2 y un 24,8% para ambos anticuerpos (con una duración media de la enfermedad de $16,49 \pm 10,43$ (0-58)) años. En cuanto a los HLA de riesgo, un 69,8% tienen DRB1*0301, un 50,7% DRB1*0401, *0402 ó *0405 y un 9,7% muestran al menos un alelo protector DRB1*0701. El análisis de ligamiento mostró un LOD de 6,4 ($p = 2.84 \cdot 10^{-8}$) en el brazo corto del cromosoma 6 (HLA) además de valores superiores a 1 en los cromosomas 2, 10, 17 y 21. El análisis mediante la prueba de desequilibrio de transmisión (TDT) mostró las asociaciones más significativas con marcadores en los cromosomas 1 ($rs1252133$, $p=7.25 \cdot 10^{-4}$), 3 ($rs1996818$, $p=8.5 \cdot 10^{-4}$), 15 ($rs11433$, $p=5.35 \cdot 10^{-4}$) y 18 ($rs635269$, $p=1.61 \cdot 10^{-4}$).

Aquellos pacientes con un inicio de la enfermedad anterior a los 15 años (61,6%) tenían menor positividad para anti-GAD 65 (47,9 vs. 70% $p = 0004$), incluso tras ajustar por tiempo de evolución de la enfermedad, una mayor frecuencia de alelos y genotipos HLA de riesgo y una menor prevalencia de alelos de protección.

El análisis de los resultados está en marcha y se esperan múltiples publicaciones relevantes en los próximos meses, tanto a nivel global como dentro de la red de colaboración europea.

GESTACIÓN DIABÉTICA: REPERCUSIÓN SOBRE EL FETO Y EL RECIÉN NACIDO

Dra. Rosa Corcoy

Servei d'Endocrinologia i Nutrició
Hospital de la Santa Creu i Sant Pau

La gestación diabética constituye un claro ejemplo de cómo la medicina puede cambiar el pronóstico de una entidad que lo tenía pésimo. Así, la mortalidad perinatal en mujeres con diabetes mellitus tipo 1 (DM1) que era del 100% antes del descubrimiento de la insulina puede aproximarse a las cifras propias de la población de referencia con unos cuidados adecuados. Sin embargo, en este cómo en otros campos de la medicina no es prudente dejarse llevar por el triunfalismo ya que si bien los resultados perinatales pueden ser muy satisfactorios, la posibilidad de complicaciones sigue latente: un control glucémico excelente que se inicie intragestación no obviará el riesgo de malformaciones, en el tratamiento de las mujeres diabéticas utilizamos fármacos potencialmente teratogénos, hay subgrupos de mujeres diabéticas con pronóstico perinatal poco favorable como son las mujeres con nefropatía diabética, un control glucémico excelente se puede deteriorar en pocas horas coincidiendo con la administración de glucocorticoides para maduración fetal o la interrupción de un tratamiento con infusión subcutánea continua de insulina. Y finalmente no hay que olvidar que aunque en general el pronóstico es francamente mejor que en décadas previas, el segmento de gestantes afectas está en aumento ya que el aumento de la edad materna junto con el de la prevalencia de obesidad y sedentarismo están en el origen de la mayor prevalencia de diabetes mellitus gestacional (DMG) y diabetes mellitus tipo 2 (DM2) en la gestación. Otros aspectos que hay que tener presentes son la influencia del ambiente intrauterino sobre la salud del feto a largo plazo y que la repercusión sobre el recién nacido puede variar según su susceptibilidad genética, siendo un claro ejemplo de ello la diabetes MODY.

Diabetes mellitus pregestacional (DPG)

La atención óptima a la gestante con DPG se inicia antes de la gestación. El objetivo de la **clínica pregestacional** es mejorar los resultados perinatales tanto maternos como fetales. Con este objetivo, es importante asegurar que no se produzca la gestación mientras se están realizando la evaluación y adaptando el tratamiento, utilizando para ello un **método anticonceptivo** eficaz y transitorio, teniendo en cuenta que no hay ninguno específicamente contraindicado en la mujer con DPG. Las **malformaciones congénitas** son de tres a seis veces más frecuentes en hijos de madres diabéticas (HMD), riesgo debido principalmente al efecto teratogénico de la hiperglucemia durante la embriogénesis; las más frecuentes son las cardiovasculares, mientras que las más características corresponden a los diferentes grados de disgenesia caudal. Los programas de asistencia pregestacional en pacientes con DPG han demostrado reducir el riesgo de malformaciones fetales tanto mayores como menores. Así, en un metaanálisis realizado en 2001, la tasa de malformaciones mayores en pacientes que habían asistido a clínica pregestacional fue del 2,1% respecto al 6,5% de las pacientes que no lo habían hecho. Ello era atribuible al mejor control glucémico de las primeras con una diferencia de HbA_{1c} entre ambos grupos de -2,3%. El objetivo de HbA_{1c} durante el seguimiento pregestacional es una cifra lo más cercana posible a la normalidad, ≈ que no sobrepase en un 1% el límite superior de la normalidad. Dado que los **abortos espontáneos** se asocian a mal control metabólico en el mismo período, lo que se precisa para minimizarlos es la misma optimización metabólica con la que buscamos reducir las malformaciones congénitas.

Para alcanzar la hemoglobina glicosilada antes mencionada, los objetivos de glucemia capilar recomendados son glucemias preprandiales de 70-100 mg/dl y 2h posprandiales de 140 mg/dl.

Los programas insulínicos que facilitan en mayor grado la optimización del control glucémico en pacientes con DM1 son los programas que utilizan el esquema bolo-basal, ya sea utilizando inyecciones múltiples o bombas subcutáneas, siendo la eficacia de estas últimas algo superior. Por lo que se refiere al tipo de insulina, los análogos han demostrado disminuir la incidencia de hipoglucemias y conseguir mejorías discretas en hemoglobina glicada. Por tanto, la utilización de bombas subcutáneas y análogos de insulina es la mejor opción que *a priori* se puede ofrecer a las mujeres diabéticas gestantes o con deseo gestacional. Sin embargo, no se ha demostrado una clara superioridad de bombas ni de análogos durante la gestación. Por la información de estudios no controlados (lispro y glargina) y controlados (aspártica), estos análogos parecen tener un perfil seguro durante la gestación. Lo que es indiscutible es que idealmente un cambio de programa y/o de tipo de insulina, es preferible realizarlo antes de la gestación.

En mujeres con DM2, cuando la dieta es insuficiente para mantener los objetivos terapéuticos se plantea el tema de la seguridad de los agentes orales. A las sulfonilureas se les ha atribuido teratogenicidad, aunque en otros estudios las malformaciones en mujeres con DM2 se asociaron a mal control glucémico y no a los **agentes orales**. La metformina pertenece a la categoría de clase B de la FDA y su uso como inductor de la ovulación en mujeres con síndrome de ovarios poliquísticos se ha asociado a una reducción de la tasa abortos en primer trimestre. En mujeres con DM2 también ha demostrado un buen perfil de seguridad pero no de manera uniforme. Con estos datos, la guía NICE de 2008 contempla el uso de metformina durante la gestación mientras que las recomendaciones de la ADA no la incluyen.

La **suplementación periconcepcional con ácido fólico** es eficaz para reducir defectos de tubo neural y otras malformaciones congénitas. Las dosis recomendadas difieren en situaciones de alto y bajo riesgo (5 mg y 400 ug/d respectivamente), y recientemente, diferentes guías clínicas han recomendado explícitamente la dosis de 5 mg en mujeres diabéticas. Esta dosis no debe obtenerse de preparados multivitamínicos, dado el riesgo de ingesta excesiva de otras vitaminas (A o D) y antes de iniciar la suplementación con ácido fólico habrá que descartar un déficit de vitamina B12 ya que podría quedar enmascarado. Además, dada la falta de información sobre la seguridad de tratamientos prolongados con altas dosis de folatos, parece prudente reducir la dosis de suplementación, si el periodo preconcepcional se prolonga.

La **ingesta diaria recomendada de yodo** en gestantes es de 200-300 mcg/d, debiendo iniciarse antes de la gestación y mantenerse durante la lactancia. Teniendo en cuenta que el margen terapéutico es amplio, se recomienda suplementar periconcepcionalmente con 100-200 ug/día de IK además de utilizar sal yodada.

Asimismo, el embarazo puede modificar la historia natural o resultar afectado por las complicaciones crónicas de la DM. Por ello, uno de los aspectos fundamentales de la asistencia pregestacional es la valoración de las manifestaciones tardías. La *retinopatía diabética* puede iniciarse o progresar durante la gestación, relacionándose el empeoramiento con la mejoría brusca del control glucémico en gestaciones no planificadas, con la gravedad inicial de la enfermedad ocular, con la presencia de hipertensión y con los cambios fisiológicos de la gestación en sustancias vasoactivas y promotoras del crecimiento. La preparación pregestacional tiene dos ventajas: permite que la mejoría en el control glucémico no sea brusca y cuando se detecta una retinopatía grave, se puede retrasar la gestación hasta que la enfermedad ocular esté estabilizada. *Nefropatía* y embarazo pueden modificarse mutuamente. Las pacientes con microalbuminuria presentan un mayor riesgo de preeclampsia, pero su enfermedad renal no se afecta por el embarazo. En cambio, en mujeres con insuficiencia renal moderada, los embarazos se complican con una alta frecuencia de prematuridad y retraso de crecimiento intrauterino, y la progresión de la insuficiencia renal es más rápida que en ausencia de gestación. Por tanto, una de las funciones importantes de la clínica pregestacional será valorar el estado

de la nefropatía e informar en consecuencia del curso previsible de la enfermedad y el embarazo para que la paciente pueda tomar una decisión informada. No existen evidencias de que el embarazo pueda ser un factor de riesgo para el deterioro de una *neuropatía autonómica* existente previamente, pero ésta puede asociarse a una peor evolución de la gestación, especialmente en pacientes con gastroparesia. Y respecto a la *enfermedad coronaria*, aunque la información que se dispone de gestantes diabéticas es limitada, la mortalidad materno-fetal es elevada, especialmente en los casos descritos antes de 1980. En caso de infarto agudo de miocardio, la mortalidad materna es superior y la fetal similar a la de gestantes no diabéticas con enfermedad coronaria. El consejo será en el sentido de no intentar la gestación, pero una vez más el papel de la clínica pregestacional será de permitir una decisión informada. Si la paciente opta por el embarazo, habrá que valorar las posibilidades de revascularización y minimizar los episodios de hipoglucemia.

Los **fármacos** son siempre un aspecto a tener en cuenta cuando se considera una gestación. Ya se han revisado los aspectos referentes a análogos de insulina y agentes orales. Otros fármacos habituales en el tratamiento de los pacientes diabéticos son los IECA y las estatinas, formalmente contraindicadas durante la gestación.

En clínica pregestacional también se realizará **despistaje de alteraciones tiroideas**. No sólo es el mejor momento de estabilizar la situación en caso de alteración sino que no debemos olvidar la alta prevalencia de disfunción tiroidea en mujeres con DM1.

Incluso cuando ha habido una preparación adecuada, el **control metabólico durante el embarazo** supone un reto ya que pretendemos que sea óptimo pero la propia gestación implica unas necesidades cambiantes. En pacientes con DM1, hay un aumento de necesidades en el 1er trimestre, una disminución al final del mismo, el conocido aumento de requerimientos en 2º y 3º y una disminución final. Por lo tanto, será necesaria una modificación continua del esquema terapéutico para adaptarse a las necesidades cambiantes. Respecto al tipo de insulina, no se ha confirmado un mayor riesgo de progresión de la retinopatía en mujeres tratadas con insulina lispro.

Al inicio de la gestación deberán valorarse las **manifestaciones tardías de la enfermedad**, y con mayor atención en las pacientes que no hayan realizado un seguimiento pregestacional específico. Durante el embarazo, la recomendación genérica es la de realizar una exploración fundoscópica trimestral, especialmente en las pacientes con retinopatía grave o mal control metabólico inicial ya que son las que presentan mayor riesgo de progresión. En las pacientes con nefropatía, un control estricto de la tensión arterial minimiza la progresión de la proteinuria y mejora la evolución final. Tras la confirmación de la gestación se revisarán asimismo los fármacos que recibe la paciente según las líneas esbozadas en clínica pregestacional.

DM1 vs DM2. Clásicamente, DPG ha sido sinónimo de DM1. Hoy en día, ello no puede ser así. En primer lugar por la prevalencia creciente de la DM2, incluyendo el segmento de edad fértil. Y en segundo lugar porque la evolución perinatal no tiene por qué ser similar en los dos tipos. Así, autores daneses han descrito una mayor tasa de malformaciones y una mortalidad perinatal superior en pacientes con DM2, pero no hay unanimidad al respecto ya que por ejemplo en estudios españoles la evolución es similar. Los resultados perinatales desfavorables en DM2 no se pueden atribuir exclusivamente al control glucémico, y probablemente se deban en parte a la obesidad ya que se asocia por sí misma a complicaciones obstétricas.

Después del parto, es necesario instituir nuevamente un método contraceptivo eficaz, fomentar la lactancia materna (ayuda a prevenir la DM1 en la descendencia), mantener un buen control metabólico especialmente durante la primera semana y realizar despistaje de tiroiditis posparto sobre todo en pacientes con DM1.

Diabetes mellitus gestacional (DMG)

La DMG es un ejemplo de la transitoriedad de los conceptos en medicina, en lo que se refiere a cribado, diagnóstico, objetivo y modalidades terapéuticas. Se **define** como la alteración de tolerancia a la glucosa de gravedad variable, con detección durante la gestación, independientemente de la necesidad de tratamiento insulínico o de que continúe después del parto; no excluye una alteración previa no detectada de la tolerancia a la glucosa. A pesar de la morbilidad asociada, es relevante que en fechas recientes aún exista división de opiniones sobre la conveniencia de su despistaje y **diagnóstico**. Lo que más pesa para la ausencia de una recomendación concreta es la escasez de estudios controlados y a que en algunos ámbitos el diagnóstico y tratamiento de la DMG se asocia a un aumento injustificado de la tasa de cesáreas. Aportando evidencia de más calidad, en 2005 se publicó un estudio que comparaba tratamiento específico vs seguimiento obstétrico convencional, y demostraba que con la primera opción se reducían a un 33% las complicaciones perinatales graves. De forma elocuente, el título de la editorial acompañante era "*Gestational diabetes mellitus: Time to treat*". El test diagnóstico es una curva de glucemia, pero existen multitud de dosis, tiempos y puntos de corte. Los primeros criterios diagnósticos específicos de gestación son los de O'Sullivan que utilizó una sobrecarga oral de 100 gr de glucosa en gestantes sanas, midió glucemia en sangre total a las 0, 1h, 2h y 3h y determinó las cifras de normalidad en términos estadísticos. Las mujeres diagnosticadas de DMG tenían un mayor riesgo de DM después del parto y el National Diabetes Data Group y los tres primeros WCGDM, recomendaron estos criterios. Sin embargo, dado que los laboratorios clínicos pasaron de medir glucemia en sangre total a plasma venoso, los puntos de corte fueron "traducidos" para la nueva metodología. En 1982, Carpenter y Coustan (CC) indicaron que la "traducción" no era correcta y propusieron unos puntos de corte para diagnóstico aproximadamente 0,5 mmol/l inferiores a los que se estaban usando. Sin embargo, los nuevos criterios no se recomendaron hasta el 4º WCGDM tras la publicación del Toronto Trihospital Gestational Diabetes Mellitus Study, que demostró en población canadiense, que mujeres que cumplían criterios de DMG según CC, pero no según el NDDG tenían más enfermedad hipertensiva, macrosomía fetal y parto por cesárea tanto respecto al grupo de referencia como a las gestantes con DMG "clásica" que tenían una alteración metabólica más grave pero que habían recibido tratamiento específico. La principal crítica de todos los criterios hoy en uso es que no fueron desarrollados a partir de criterios neonatales. Para zanjar definitivamente la cuestión se diseñó el estudio HAPO (Hyperglycemia And Pregnancy Outcome), para obtener los criterios a partir de resultados perinatales. Ya se han publicado resultados del estudio confirmando que la relación entre glucemia materna y resultados perinatales es continua, pero aún no se han consensuado los nuevos criterios diagnósticos.

Para evitar la realización de una sobrecarga a todas las gestantes, (sobre todo cuando se utiliza la prueba de 3h), se han intentado múltiples **test de despistaje**, todos imperfectos. Las mejores opciones son la glucemia basal, utilizando un punto de corte suficientemente bajo (87-93 mg/dl) y la glucemia 1h después de la ingesta de 50 gr glucosa, test inicialmente descrito por O'Sullivan y usualmente conocido con este nombre. El más utilizado es este último, probablemente como consecuencia de la recomendación de los sucesivos WCGDM. La realización de un despistaje selectivo, ha sido un intento de optimización del mismo y esta es la recomendación de 4th y 5th WCGDM. Ello supone no realizar despistaje a las gestantes de bajo riesgo, grupo constituido por las gestantes que cumplan TODOS los criterios siguientes: 1) miembro de un grupo étnico con baja prevalencia de DMG, 2) No historia familiar de DM en familiares de primer grado, 3) edad < 25 años, 4) peso N antes de la gestación, 5) No historia de alteración del metabolismo hidrogenocarbonato, 5) No historia de antecedentes obstétricos desfavorables. En el último WCGDM se ha añadido un criterio más que es que la propia gestante hubiera tenido un peso N al nacer. El momento de la realización del test es cuando tiene un máximo rendimiento a las 24-28 semanas, además de un test adicional tan pronto como sea posible en el grupo de alto riesgo, y siempre que haya clínica sugestiva de hiperglucemia. Los problemas

que presenta el test de despistaje con 50 gr de glucosa son los de toda sobrecarga de glucosa. La principal crítica a los diferentes métodos de despistaje no es su sensibilidad, especificidad o coste que estarían dentro del rango considerado como bueno, sino el hecho de que este rendimiento se consigue utilizando un test que no es mucho más práctico, sencillo o barato que lo que supondría la aplicación directa del test diagnóstico. Por ello, si bien 4º y 5º Workshop-Conference consideran tanto la estrategia de despistaje y diagnóstico en un paso (despistaje y diagnóstico con 75 g de glucosa) o dos pasos (despistaje con 50 + diagnóstico con 100 g si el primero es positivo), cuando se disponga de los criterios derivados del estudio HAPO, la estrategia se cambiará a un solo paso.

¿Qué estrategia utilizar en nuestro medio? En los WCGDM ya se advertía que la aplicación de un despistaje selectivo de DMG requería validar su funcionamiento en el medio concreto. En algunos medios no se considera satisfactorio, y este también es nuestro caso, no porque se “pierdan” muchos diagnósticos sino porque la aplicación de un programa de despistaje selectivo, supondría realizar el test a más del 90% de las gestantes, lo que prácticamente supone un despistaje universal. Por lo que se refiere al test diagnóstico, los datos del Toronto Tri-Hospital Gestational Diabetes Study son suficientemente elocuentes como para apoyar claramente un cambio en los criterios diagnósticos de DMG en el sentido en que lo hicieron los WCGDM siguientes. Sin embargo, cuando el GEDE (Grupo Español de Diabetes y Embarazo) se planteó la cuestión, además del inevitable aumento en la prevalencia de DMG, se valoró la ausencia de datos concretos en población española. Por ello, antes de pronunciarse sobre la adopción de los criterios de CC, se diseñó un estudio para evaluar el impacto potencial de su aplicación para el diagnóstico de la DMG en España. Confirmando los hallazgos de estudios previos, la prevalencia de DMG en España es alta (8,2%), superior a la del Toronto-Trihospital Gestational Diabetes Project, prevalencia que aumentaría un 32% con la aplicación de los criterios CC. En las mujeres que cumplían exclusivamente estos criterios, no se observó un aumento significativo en ninguna de las dos variables principales de resultado (cesárea y macrosomía) y sólo en dos de los secundarios (recién nacidos grandes para la edad de gestación y enfermedad hipertensiva del embarazo). Globalmente, y dado a que en España, las mujeres que únicamente cumplían los criterios de DMG de CC tenían una morbilidad leve, el GEDE optó por no modificar los criterios diagnósticos y mantener los de los tres primeros WCGDM, o sea los del National Diabetes Data Group.

Por lo que respecta al **tratamiento de la mujer con DMG**, clásicamente se ha basado en normalizar al máximo las cifras glucémicas maternas, para minimizar la repercusión fetal. Para los últimos WCGDM, el objetivo de control glucémico está en cifras de glucemia ≤ 95 mg/dl (5,3 mmol/l) en situación basal y 140 mg/dl (7,8 mmol/l) 1h posprandial o 120 mg/dl (6,6 mmol/l) a las 2h. A este respecto, es importante hacer notar que se recomienda la automonitorización de glucemia capilar (AMGC) para la toma de decisiones terapéuticas, que se reconoce que las cifras observadas en gestantes con tolerancia a la glucosa N son más bajas que los objetivos antes citados y que la normalización de la glucemia posprandial se asocia a mejores resultados perinatales que la sola normalización basal/preprandial, por lo que es obligado la inclusión de mediciones postprandiales en el patrón de AMGC. La dieta es el pilar fundamental del tratamiento aunque no existe acuerdo sobre cuál debe ser el aporte calórico mínimo. Aparte de la mejoría del control glucémico, las modificaciones dietéticas deberán evitar la presencia de cetonuria ya que las concentraciones maternas de betahidroxibutirato en segundo y tercer trimestre del embarazo se han asociado a alteraciones leves en el desarrollo psicomotor del feto. El ejercicio (tanto crónico como agudo) es útil como terapia adyuvante en el tratamiento de la hiperglucemia. En cuanto al tipo, si la intensidad es moderada es más recomendable el ejercicio que implica la cintura escapular. Cuando con dieta y ejercicio no se alcanzan los objetivos de AMGC descritos, la insulina es el fármaco que ha demostrado una reducción de la morbilidad fetal de forma más consistente. No está establecida la pauta ideal aunque las pau-

tas de tratamiento intensivo obtienen mejores resultados en control glucémico y morbilidad neonatal que el tratamiento convencional con dos dosis de insulina. Por otra parte, debido a su perfil de acción, los análogos rápidos de insulina ofrecen la ventaja de disminuir más rápidamente los picos de glucemia postprandial. Sin embargo, no se ha demostrado que su utilización en mujeres con DMG conlleve mejores resultados perinatales. Durante décadas, la recomendación de no utilizar agentes orales durante la gestación ha sido un axioma. La base era el riesgo de hipoglucemia neonatal en hijos de madres tratadas con sulfonilureas de primera generación ya que atravesaban la placenta. Sin embargo, tras demostrar que la glibenclamida, sulfonilurea de segunda generación atravesaba sólo mínimamente la placenta, Langer llevó a cabo un estudio controlado y aleatorizado en mujeres con DMG sulfonilureas vs insulina. Los resultados perinatales fueron similares en ambos grupos y la incidencia de hipoglucemias maternas inferior en el grupo tratado con glibenclamida, siendo preciso el tratamiento "de rescate" con insulina en el 4% de las mujeres de este grupo. Sin embargo es el único ensayo clínico realizado hasta la fecha y no se conoce si el tratamiento con sulfonilureas influye en la tolerancia materna a la glucosa después del parto. Por lo que se refiere al tratamiento con metformina, también se ha realizado un único ensayo clínico con este fármaco y si bien los resultados perinatales son satisfactorios, hay que resaltar que un porcentaje significativo de mujeres precisó tratamiento concomitante con insulina y que se desconoce el efecto del fármaco sobre el recién nacido a medio-largo plazo. Además, en contraposición al enfoque clásico basado en el control de la glucemia materna, hay una serie de estudios que lo comparan con el tratamiento basado en la sospecha de hiperinsulinismo fetal, utilizando como variable sustituta el perímetro abdominal. Hasta la fecha este planteamiento se ha demostrado efectivo para normalizar el peso del recién nacido, indicándose tratamiento farmacológico de forma coincidente u opuesta a lo que indicaría la AMGC.

Para la **revaloración posparto** es preferible un test de tolerancia oral a la glucosa a una glucemia basal, ya que la glucemia basal aislada tiene una baja sensibilidad en este colectivo. Las mujeres con DMG presentan un riesgo más elevado que las mujeres control tanto de DM y alteraciones de la tolerancia a la glucosa como de síndrome metabólico. Sin embargo, este riesgo varía según las poblaciones. Así, los datos correspondientes a nuestro país indican una progresión a diabetes y una prevalencia de síndrome metabólico, inferiores a las descritas en otros ámbitos.

Bibliografía recomendada

1. Buchanan TA et al. Use of fetal ultrasound to select metabolic therapy for pregnancies complicated by mild gestational diabetes. *Diabetes Care* 1994; 17(4):275-83.
2. Capel I, Corcoy R. What dose of folic acid should be used for pregnant diabetic women? *Diabetes Care*. 2007;30(7):e63.
3. Cooper WO, Hernandez-Diaz S, Arbogast PG, Dudley JA, Dyer S, Gideon PS, Hall K, Ray WA. Major congenital malformations after first-trimester exposure to ACE inhibitors. *N Engl J Med*. 2006; 354(23):2443-51.
4. Coustan DR. Management of gestational diabetes mellitus: a self-fulfilling prophecy? *JAMA*. 1996; 275(15):1199-200
5. Crowther CA, et al. Effect of treatment of gestational diabetes mellitus on pregnancy outcomes. *N Engl J Med* 2005; 352: 2477-2486
6. de Veciana M, et al. Postprandial versus preprandial blood glucose monitoring in women with gestational diabetes mellitus requiring insulin therapy. *N Engl J Med* 1995; 333:1237-41.
7. Edison RJ, Muenke M. Mechanistic and epidemiologic considerations in the evaluation of adverse birth outcomes following gestational exposure to statins. *Am J Genet* 2004;131A:287-298
8. HAPO Study Cooperative Research Group. Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. *N Engl J Med*. 2008 May 8; 358(19):1991-2002.
9. Hillman N, Herranz L, Vaquero P, Villarroel A, Fernandez A, Pallardo LF. Is pregnancy outcome worse in type 2 than type 1 diabetic women? *Diabetes Care*. 2006;29(11):2557-8
10. Langer O, et al. A comparison of glyburide and insulin in women with gestational diabetes mellitus. *N Engl J Med* 2000; 343(16):1134-8.

TERAPIA CELULAR ¿DÓNDE ESTAMOS?

Enrique Roche Collado

Instituto de Bioingeniería, Universidad Miguel Hernández, Elche (Alicante)

Introducción

La diabetes es una enfermedad que se caracteriza por una destrucción de las células productoras de insulina del organismo, denominadas células β . Dicha destrucción es causada por un ataque autoinmune en el caso de la diabetes tipo 1, o por mecanismos glucolipotóxicos en la diabetes tipo 2. La progresión fatal de la enfermedad hace que en ambos casos el paciente tenga que recurrir a la inyección de insulina. Sin embargo, el pobre control de la glucemia en estas circunstancias, no evita el desarrollo de complicaciones secundarias relacionadas con alteraciones micro- y macrovasculares. En cualquier caso, la inyección de insulina no deja de ser un remedio paliativo, ya que la verdadera terapia reside en sustituir el tipo celular dañado por otro funcional. En este sentido, el trasplante de islotes, con todos los problemas que aún quedan por resolver, se plantea como una alternativa de futuro en el tratamiento de la enfermedad. La dependencia de los escasos donantes cadavéricos para conseguir material transplantable, no permite cubrir con garantías las necesidades de los más de dos millones de diabéticos que existen en España. De esta forma, se deben buscar fuentes alternativas de células que puedan aplicarse a una terapia sustitutiva para el tratamiento de la diabetes.

Las células madre, tanto embrionarias como adultas, son firmes candidatos, ya que permiten la obtención de abundante biomasa por mecanismos de autorreplicación, y en condiciones determinadas pueden diferenciarse a tipos celulares concretos. Los recientes avances en el campo de las células madre embrionarias hacia células productoras de insulina indican que trasladar al tubo de ensayo el recorrido que hace el páncreas endocrino durante su desarrollo embrionario, es una estrategia lógica. Así, protocolos basados en este razonamiento han permitido obtener células con contenidos en insulina muy similares a los que posee una célula adulta y con un comportamiento secretor muy similar. Sin embargo, las células obtenidas *in vitro* coexpresan otras hormonas junto con la insulina y generan tumores al ser transplantadas a modelos de animales diabéticos. Estos resultados indican que debemos ahondar más en el conocimiento del desarrollo embrionario pancreático para encontrar claves y determinantes que puedan ser trasladados a la placa de cultivo y mejorar de esta forma los protocolos existentes.

En cuanto a las células madre adultas, todavía se desconoce la naturaleza del tipo o tipos celulares responsables de los procesos de regeneración y autorrenovación pancreática. La utilización de otros tipos celulares requeriría aplicar técnicas de transdiferenciación y reprogramación mediante protocolos de manipulación genética. Aunque los resultados son todavía muy modestos, la utilización de células adultas solventaría el debate ético que suscita la utilización de las células embrionarias y permitiría abordar con más garantías el problema del rechazo, siempre que donante y receptor sean la misma persona. En el presente documento se van a presentar y discutir los avances más recientes en el campo de la terapia celular dirigida al tratamiento de la diabetes.

PROTOCOLOS DE OBTENCIÓN DE CÉLULAS SECRETORAS DE INSULINA A PARTIR DE CÉLULAS MADRE EMBRIONARIAS

Como ya se ha comentado anteriormente, los protocolos que intentan trasladar los eventos que ocurren durante el desarrollo embrionario a la placa de cultivo, son los que han generado los resultados más interesantes. El páncreas endocrino deriva de la capa embrionaria que se denomina endodermo definitivo, una capa muy difícil de generar *in vitro*, ya que requiere señales complejas derivadas de las otras dos capas: mesodermo y ectodermo. En este sentido,

es importante señalar que la simple expresión de insulina en las células que se están manipulando no es una garantía suficiente de que se están obteniendo células β . Las evidencias experimentales apuntan que la insulina puede expresarse en tejidos neuroectodérmicos y en el endodermo visceral, presentando algunas características diferenciales cuando se compara con el páncreas endocrino. Los tejidos extrapancreáticos y positivos a insulina suelen contener niveles de hormona 1000 veces inferiores a los detectados en las células β pancreáticas. Además la hormona se encuentra sin procesar, como preproinsulina, y su secreción no responde a las concentraciones extracelulares de glucosa. Estos tejidos, en concreto los neuroectodérmicos, suelen obtenerse con mucha facilidad en los protocolos de diferenciación *in vitro*, ya que esta capa embrionaria no requiere de señales muy complejas para aparecer en las placas de cultivo. Por ello, los protocolos que potencian *in vitro* la aparición de endodermo definitivo se han presentado como una sólida opción.

Así el grupo del Dr. Baetge, en San Diego, ha obtenido células secretoras de insulina a partir de células madre humanas, presentando unos contenidos de hormona muy similares a los que se encuentran en un páncreas adulto. Para ello, se añadieron de forma secuencial medios diseñados que contenían las señales extracelulares clave que operan *in vivo* durante el desarrollo pancreático. Cada etapa fue controlada mediante la expresión de genes específicos. Sin embargo el grupo insiste en que se trata todavía de células inmaduras ya que en una misma célula se observa la coexpresión de insulina y glucagón, cosa que no ocurre en el adulto, en donde ambas hormonas se expresan en células diferentes. Además, el trasplante a modelos de animales diabéticos generó teratomas al cabo de varios días. Finalmente, la eficiencia de obtención es todavía muy baja, ya que sólo un 7% de las células del cultivo inicial siguen la ruta de diferenciación. Una de las conclusiones que se deducen de la lectura de este trabajo, es que el conocimiento que todavía tenemos sobre el desarrollo embrionario del páncreas endocrino es muy incompleto y debemos identificar nuevas señales que podamos trasladar a los protocolos *in vitro*.

En este sentido, el grupo dirigido por el Dr. Franz Martín en CABIMER (Sevilla), también publica en "*Cell Tissues Organs*" (2008, 188: 70-77) la obtención de células productoras de insulina siguiendo una ruta endodérmica. En dicha revisión, hacen referencia a una publicación anterior de su grupo (*Stem Cells* 2006, 24: 258-265) en la que añadiendo medio condicionado de yemas pancreáticas al cultivo de células madre, en este caso de ratón (células D3), obtenían células secretoras de insulina. Las yemas pancreáticas son estructuras que aparecen durante el desarrollo fetal del páncreas a día 13-16. La idea era encontrar alguna señal producida por el propio páncreas y que a través de un efecto paracrino, pudiera promover la diferenciación hacia linajes productores de hormonas. Utilizando técnicas de proteómica, nuestro grupo identificó un péptido en el medio condicionado perteneciente al grupo de las proteínas Reg, a las que se les había atribuido propiedades como estimuladoras de la proliferación celular en diversos tejidos, incluyendo páncreas y neuronas.

Sin embargo, la repetición en nuestro laboratorio del protocolo del grupo citado anteriormente dio resultados contradictorios, a pesar de utilizar la misma estirpe celular y los mismos medios condicionados. El protocolo publicado en la sección de "Material y Métodos" rindió siempre que se repitió células positivas a insulina, pero de origen ectodérmico. Modificaciones realizadas por nuestro grupo para intentar afinar el resultado siguieron rindiendo neuroectodermo. El único dato que podía sugerir la presencia de endodermo en este protocolo hacía referencia a la expresión de preproglucagón. Esto nos llevó a analizar con mayor detalle las células positivas a glucagón, para verificar su verdadero origen.

Los ensayos de inmunocitoquímica revelaron que estas células coexpresaban la hormona en los mismos tipos celulares que expresaban marcadores de neuroectodermo. Además, se ha-

bía descrito la presencia de preproglucagón en neuronas del tálamo e hipotálamo. Estas dos observaciones, junto con pruebas experimentales adicionales nos sugirieron que las células positivas a glucagón derivaban de ectodermo y no de endodermo definitivo. Nuestro grupo tampoco pudo reproducir los resultados de secreción de insulina, ocurriendo la liberación de la hormona de forma constitutiva sin observar una liberación aumentada a altas concentraciones de glucosa, tal y como publica el citado grupo. Finalmente, se indica una ausencia de tumores en los animales transplantados, que logran corregir su glucemia. Sin embargo, hay que señalar que el sacrificio del animal se realizó en dicha publicación a los 15 días tras el implante. La repetición por parte de nuestro grupo de estos transplantes reveló la aparición de teratomas a los 3 meses. Un análisis más detallado indicó que dichos teratomas son producidos por células residuales que escapan del proceso diferenciador y que tienen una alta tasa proliferativa. El cariotipo mostró la existencia de duplicaciones cromosómicas, en concreto una trisomía en los pares 8 y 9, que podría explicar en parte este comportamiento. También observamos un patrón diferente en la fosforilación del oncogen c-myc. Todos estos resultados indican que es necesario realizar severos controles para poder afirmar con cierto margen de seguridad que un determinado protocolo permite la obtención de un determinado tipo o linaje celular.

La duda que subyace es ¿cómo un entorno que favorece el desarrollo del páncreas endocrino no permite la obtención de precursores endodérmicos? Quizás la respuesta sea más compleja de lo que parece y que otros determinantes deban ser también considerados. Por un lado, no hay que olvidar que las señales de capas embrionarias adyacentes, necesarias *in vivo*, no hayan sido consideradas en el diseño experimental discutido. También debe tenerse en cuenta la dependencia que estos protocolos tienen de la línea celular que se está ensayando. Aunque este no es el caso, ya que nuestro grupo usó exactamente la misma línea celular, existen resultados de ciertos laboratorios difíciles de trasladar a otros sistemas celulares cultivados. Finalmente, hay que diseñar estrategias que permitan eliminar la población residual generadora de tumores, ya que un protocolo óptimo de terapia celular debe asegurar ante todo la bioseguridad del implante.

PROTOCOLOS DE OBTENCIÓN DE CÉLULAS SECRETORAS DE INSULINA A PARTIR DE CÉLULAS MADRE ADULTAS

Las células madre adultas presentan diversas ventajas sobre las células embrionarias. En primer lugar tienen una tasa de proliferación menor y ausencia de rechazo inmunitario siempre que el donante y el receptor sean la misma persona. Además, por su origen, son células que no levantan ninguna polémica de tipo ético. Ahora bien, la utilización de las células madre adultas para un posible tratamiento de la diabetes debe resolver primero algunos problemas.

En primer lugar, el páncreas es un tejido con una baja tasa proliferativa si lo comparamos con el hígado, aunque ambos derivan de la misma capa embrionaria. Esto ha hecho muy difícil encontrar la verdadera población responsable del recambio celular en el páncreas endocrino. *In vitro*, se han podido obtener células productoras de insulina a partir de células del ducto pancreático y de células mesenquimales asociadas al mismo islote. Otros grupos han aislado poblaciones de células acinares que en determinadas condiciones de cultivo han dado lugar a células positivas a insulina. Sin embargo, otros laboratorios defienden la teoría de que las células β se autorrenuevan ellas mismas, cuestionando la existencia de una población de células madre pancreáticas. De todo ello se deduce que es necesario realizar más estudios para definir lo que está pasando exactamente. La hipótesis más aceptada por la mayoría de los laboratorios es que los mecanismos de autorenovación del páncreas endocrino difieren de los mecanismos de reparación ante una agresión, como puede ser la misma diabetes. Es muy probable que diferentes grupos celulares se movilicen y diferencien ante señales diferentes y esto explique la diversidad de resultados obtenidos. Una investigación de calidad podrá dar una

respuesta a esta importante pregunta, ya que la caracterización precisa de los mecanismos replicativos en el páncreas, permitirá diseñar fármacos específicos que permitan controlar estos procesos. Ya existen algunos compuestos, como el péptido análogo al glucagón (GLP-1), que actuarían favoreciendo procesos replicativos en célula β y restaurando la masa celular perdida en estados de prediabetes tipo 2. La aplicación de este tipo de estrategias estaría más limitada en el tratamiento de la diabetes tipo 1, ya que la muerte celular por ataque autoinmune sobrepasa la tasa proliferativa del páncreas. En este sentido, estrategias que permitan un control más específico de la autoinmunidad conjuntamente con fármacos que favorezcan la regeneración del páncreas endocrino, serían más operativas en este tipo de enfermedad.

Fuera del páncreas existen células madre adultas, que podrían emplearse como una alternativa para protocolos de terapia celular en diabetes. Sin embargo, estas células están ya comprometidas en un determinado linaje y un cambio hacia otro tipo celular para el que no están programadas, resulta complicado. Este cambio de compromiso es lo que se denomina transdiferenciación. La evidencia experimental apunta que es posible reprogramar células adultas hacia linajes celulares específicos, pero los mecanismos que operan en dichos procesos son todavía un misterio. Algunos grupos han descrito eventos de fusión celular, que podrían explicar una parte minoritaria de los resultados. En otros casos se ha descrito la participación de eventos indirectos, como la neovascularización, para favorecer los procesos diferenciadores en determinados nichos celulares.

Sin embargo existe un tipo celular, las células mesenquimales, que aunque derivan de la capa embrionaria del mesodermo, muestran una gran plasticidad *in vitro*. Estas células se pueden obtener a partir de aspirados de médula ósea y tejido adiposo. Su aislamiento del resto de tipos celulares es fácil gracias a sus propiedades de adherencia a las superficies de cultivo. Una vez aisladas, suelen mantenerse dividiéndose muy lentamente. Diversos grupos han demostrado que estas células pueden, bajo determinadas condiciones, diferenciarse a células secretoras de insulina. La transfección de células mesenquimales con constructos que codifican factores de transcripción típicos de la célula β , han rendido resultados muy interesantes. En la misma línea, la transfección de células acinares del páncreas exocrino, un tipo celular muy relacionado filogenéticamente con la célula β , con ADN codificador de factores de transcripción específicos de este tipo celular, rindió células productoras de insulina. Sin embargo, la manipulación genética de células adultas abre un nuevo debate ético en el seno de la comunidad científica. Para evitar esta polémica se están desarrollando nuevas técnicas basadas en la transferencia de proteínas específicas al interior celular mediante péptidos de transporte. En este sentido, se sabe que determinadas secuencias peptídicas, como las regiones Antennapedia, permiten la translocación de las proteínas a las que van unidas, del exterior al interior celular. Se han podido identificar estas secuencias en alguno de los factores de transcripción característicos de las células β y se ha verificado su internalización cuando se han puesto en contacto con células ductales, consiguiendo su diferenciación a células secretoras de insulina. Esta tecnología abre otras muchas posibilidades al permitir introducir proteínas en islotes adultos para regular procesos apoptóticos o relacionados con la autoinmunidad.

A modo de conclusión

La terapia celular para el tratamiento de la diabetes se encuentra en sus albores. Se abre en este sentido una prometedora línea de trabajo en la que se encuentran implicados muchos grupos de investigación en todo el mundo. Una óptima coordinación y el desarrollo de proyectos novedosos para afrontar los obstáculos que aparezcan, aportarán aires nuevos a este excitante campo de la biomedicina. En conclusión, el apoyo de una investigación de calidad es necesario, ya que las expectativas que se han despertado y los avances conseguidos parecen augurar un futuro muy prometedor a medio y largo plazo.

Bibliografía recomendada

1. Efrat S. Prospects for gene therapy of insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia* 1998; 41: 1401-9.
2. Roche E, Reig JA, Campos A, Paredes B, Isaac JR, Lim S, et al. Insulin-secreting cells derived from stem cells: Clinical perspectives, hopes and hopes. *Transplant Immunol* 2005; 15: 113-29.
3. Shapiro AM, Lakey JR, Ryan EA, Korbutt GS, Toth E, Warnock GL, et al. Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N Engl J Med* 2000; 343: 230-8.
4. Ryan EA, Paty BW, Senior PA, Bigam D, Alfadhli E, Kneteman NM, Lakey JR, Shapiro AM. Five-year follow-up after clinical islet transplantation. *Diabetes* 2005; 54: 2060-9.
5. Hogan A, Pileggi A, Ricordi C. Transplantation: current developments and future directions; the future of clinical islet transplantation as a cure for diabetes. *Front Biosci* 2008; 13: 1192-205.
6. Madsen OD, Serup P. Towards cell therapy for diabetes. *Nat Biotech* 2006; 24: 1481-3.
7. Fellous TG, Guppy NJ, Brittan M, Alison MR. Cellular pathways to β -cell replacement. *Diabetes Metab Res Rev* 2007; 23: 87-99.
8. Murtaugh LC. Pancreas and beta-cell development: from the actual to the possible. *Development* 2007; 134: 427-438.
9. Lee SC, Pervaiz S. Apoptosis in the pathophysiology of diabetes mellitus. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 497-504.
10. D'Amour KA, Bang AG, Eliazar S, Kelly OG, Agulnick AD, Smart NG, et al. Production of pancreatic hormone-expressing endocrine cells from human embryonic stem cells. *Nat Biotech* 2006; 24: 1392-401.
11. Roche E, Sepulcre P, Reig JA, Santana A, Soria B. Ectodermal commitment of insulin-producing cells derived from mouse embryonic stem cells. *FASEB J* 2005; 19: 1341-3.
12. Ensenat-Waser R, Santana A, Vicente-Salar N, Cigudosa JC, Roche E, Soria B, et al. Isolation and characterization of residual undifferentiated mouse embryonic stem cells from embryoid body cultures by fluorescence tracking. *In Vitro Cell Develop Biol-Animal* 2006; 42: 115-23.
13. Melloul D, Marshak S, Cerasi E. Regulation of insulin gene transcription. *Diabetologia* 2002; 45: 309-26.
14. Santana A, Enseñat-Waser R, Arribas MI, Reig JA, Roche E. Insulin-producing cells derived from stem cells: recent progress and future directions. *J Cell Mol Med* 2006; 10: 866-83.
15. Yasunaga M, Tada S, Torikai-Nishikawa S, Nakano Y, Okada M, Jakt LM, Nishikawa S, Chiba T, Era T, Nishikawa S. Induction and monitoring of definitive and visceral endoderm differentiation of mouse ES cells. *Nat Biotech* 2005; 23: 1542-50.
16. Herrera PL. Defining the cell lineages of the islets of Langerhans using transgenic mice. *Int J Dev Biol* 2002; 46: 97-103.
17. Kieffer TJ, Habener JF. The glucagon-like peptides. *Endocr Rev* 1999; 20: 876-913.
18. Vaca P, Martin F, Vegara-Meseguer JM, Rovira JM, Bernat G, Soria B. Induction of differentiation of embryonic stem cells into insulin secreting cells by fetal soluble factors. *Stem Cells* 2006; 24: 258-65.
19. Roche E, Jones J, Arribas MI, Leon-Quinto T, Soria B. Role of small bioorganic molecules in stem cell differentiation to insulin-producing cells. *Bioorg Med Chem* 2006; 14: 6466-74.
20. Bonner-Weir S, Taneja M, Weir GC, Tatarkiewicz K, Song KH, Sharma A, et al. In vitro cultivation of human islets from expanded ductal tissue. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 7999-8004.
21. Zulewski H, Abraham EJ, Gerlach MJ, Daniel PB, Moritz W, Müller B, et al. Multipotential nestin-positive stem cells isolated from adult pancreatic islets differentiate ex vivo into pancreatic endocrine, exocrine and hepatic phenotypes. *Diabetes* 2001; 50: 521-33.
22. Zulewski H. Stem cells with potential to generate insulin-producing cells in man. *Swiss Med Wkly* 2006; 136: 647-54.
23. Xu X, D'Hoker J, Stangé G, Bonné S, De Leu S, Xiao X, et al. β Cells can be generated from endogenous progenitors in injured adult mouse pancreas. *Cell* 2008; 132: 197-207.
24. Minami K, Okuno M, Miyawaki K, Okumachi A, Ishizaki K, Oyama K, et al. Lineage tracing and characterization of insulin-secreting cells generated from adult pancreatic acinar cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 15116-21.
25. Dor Y, Brown J, Martínez OI, Melton DA. Adult pancreatic β -cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation. *Nature* 2004; 429: 41-6.
26. Ackermann AM, Gannon M. Molecular regulation of pancreatic β -cell mass development, maintenance, and expansion. *J Mol Endocrinol* 2007; 38: 193-206.
27. Kodama S, Kuhlreiber W, Fujimura S, Dale EA, Faurtman DL. Islet regeneration during the reversal of autoimmune diabetes in NOD mice. *Science* 2003; 302: 1223-7.
28. Hess D, Li L, Martin M, Sakano S, Hill D, Strutt B, et al. Bone marrow-derived stem cells initiate pancreatic regeneration. *Nat Biotech* 2003; 21: 763-70.
29. Voltarelli JC, Couri CEB, Stracieri ABPL, Oliveira MC, Moraes DA, Pieroni F, et al. Autologous nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation in newly diagnosed type 1 diabetes mellitus. *JAMA* 2007; 297: 1568-76.
30. Moriscot C, De Fraipont F, Richard M-J, Marchand M, Savatier P, Bosco D, et al. Human bone marrow mesenchymal stem cells can express insulin and key transcription factors of the endocrine pancreas developmental pathway upon genetic and/or microenvironmental manipulation in vitro. *Stem Cells* 2005; 23: 594-604.
31. Karnieli O, Izhar-Prato Y, Bulvik S, Efrat S. Generation of insulin-producing cells from human bone marrow mesenchymal stem cells by genetic manipulation. *Stem Cells* 2007; 25: 2837-44.
32. Timper K, Seboek D, Eberhardt M, Linscheid P, Christ-Crain M, Keller U, et al. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells differentiate into insulin, somatostatin, and glucagon expressing cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 341: 1135-40.

FETAL PROGRAMMING: IMPLICATIONS FOR FUTURE DISEASE

Jörg Dötsch

Department of Pediatrics, University Hospital Erlangen, Germany

Introduction

The term 'perinatal programming' describes the fact that temporary environmental changes during fetal life or early infancy can lead to a permanent alteration of physiological processes. Such an environmental change can be intrauterine malnutrition or hypoxia leading to intrauterine growth restriction (IUGR) and, in most cases to a low birth weight. Low birth weight has been found to be associated with an increase of morbidity in numerous diseases. Among these are obesity, diabetes mellitus type 2 and other endocrine disorders, increased arterial blood pressure, renal disease, and even psychiatric disorders such as depression or schizophrenia. While the number of individuals investigated was initially rather small, large studies have meanwhile been conducted. As an example, a recent meta-analysis of 20 Nordic studies based on 183,026 adult males shows a drop in systolic blood pressure of approximately 1 mmHg per kg birth weight (Gamborg et al., 2007). Interestingly, the same study shows that in 14,928 females this inverse association is only detected between 2 and 4 kg of birth weight, whereas a further rise in neonatal weight is linked with an increase in systolic blood pressure later in life. Another meta-analysis examined the impact of study size and investigators on the extent of hypertension (Huxley et al., 2002). The authors found that smaller studies showed a more pronounced inverse association between birth weight and blood pressure. In addition, they showed that studies published by or with the researchers that had originally formulated the "small-baby" hypothesis depicted a stronger effect of birth weight on later blood pressure than studies performed by other investigators.

These observations indicate that the mere epidemiological linkage of birth weight and arterial blood pressure later in life does not sufficiently address the issue of perinatal programming. Therefore, a number of questions need to be raised:

1. What is the actual event directly linked with the process of fetal or perinatal programming?
Is it low birth weight or a state of intrauterine deficiency involving IUGR?
2. Is there a causal relationship between IUGR and later morbidity?
3. Is it possible to prevent the consequences of fetal programming after IUGR has already occurred?
4. Most importantly what are the underlying mechanisms?

Intrauterine events associated with fetal programming

To answer the first question the etiology of low birth weight has to be scrutinized. Low birth weight can be the consequence of a number of prenatal events. IUGR is indeed one of the mechanisms leading to low birth weight. However, there are numerous other conditions associated with a reduced weight at birth: These include severe fetal infection, maternal alcohol abuse, severe fetal heart failure and others. Most importantly, low birth weight, i.e. birth weight among the group of the lightest 10 or 5% of neonates may simply be a physiological condition due to small parental size. Therefore, by relating birth weight to diseases later in life, the actual prenatal event leading to fetal programming of adult disease is not accounted for.

In addition, it needs to be born in mind that other prenatal conditions may lead to fetal programming. Among these are maternal diabetes mellitus, glucocorticoids and fetal overnutrition by maternal obesity (Plagemann et al., 2006). The latter may explain why the risk

ratio for certain adulthood diseases shows a U- or J-shaped relation to birth weight (Gamborg et al., 2007).

Causal relation between intrauterine growth restriction and later morbidity

Most data originating from human studies are based on epidemiological associations. Although epidemiological methods allow for eliminating confounding factors to the highest possible extent, these studies can never fully prove causal relationships between an initial programming event such as intrauterine growth restriction and later morbidity. Therefore, animal studies have been designed to show causal relationships. Two rat models are widely used: Uterine artery ligation is commonly used to examine metabolic disorders such as diabetes mellitus (Nüsken et al., 2008). The ligation of both uterine arteries leads to a reduced blood flow to the placentas of the different individual rat fetuses. This model is therefore reminiscent of placental insufficiency in humans. The setting most widely used for cardiovascular IUGR research is the protein restriction model (Plank et al., 2006). Pregnant rats are fed an isocaloric but restricted to 40% of normal protein nutrient. This model mimics a situation which is a frequent cause for IUGR in developing countries.

Both animal models can be used to examine causal relationships and mechanisms. For example: The underlying clinical observation was that the risk for an unfavourable course of IgA nephropathy increased for children born with a low birth weight. Using the protein restriction animal model we could show that former IUGR leads to an increased susceptibility of a more severe and potentially chronic course of an acute mesangioproliferative glomerulonephritis in male rats (Plank et al., 2006).

Preventing morbidity after fetal programming

One of the earliest potential strategies to prevent morbidity after IUGR is the avoidance of hyperalimentation. Data from the Dutch famine at the end of World War 2 had revealed a higher incidence of metabolic diseases such as diabetes mellitus type 2 in the offspring if nutrient deprivation had struck the fetus in the third trimester of pregnancy (Ravelli et al., 1998). In contrast, offspring from the Leningrad siege in World War 2 had no increased incidence of diabetes type 2 or pathological glucose tolerance (Stanner and Judkin, 2001). The traditional explanation, although challenged, is that intrauterine nutrient deprivation has led to a programming of endocrine systems towards energy saving in fetal life. Continuous nutrient deprivation after birth is therefore well tolerated (as in the Leningrad offspring). In contrast, fast reconstitution of energy supply and therefore relative hyperalimentation as in the offspring of the Dutch famine leads to a surplus of energy carriers which are subsequently deposited as adipose tissue predisposing to pathological glucose tolerance.

There is considerable evidence that hyperalimentation plays an important pathophysiological role in perinatal programming postnatal. The enrichment of formula infant diet from 284 to 301 kcal and increase in protein from 1.4 to 1.8 g/100ml was associated with an increase of diastolic blood pressure by 3.5 mmHg at the age of 6-8 (Singhal et al., 2007). Also, accelerated catch-up growth is associated with higher blood pressure (Ben-Shlomo et al., 2008). As a consequence, the International Societies of Paediatric Endocrinology and the Growth Hormone Research Society discourage nutrient enriched diet in low birth weight infants. Nonetheless, the study does not differentiate between actual IUGR and low birth weight of other origin. Therefore, before advice to parents of children with low birth weight and IUGR in particular can be conclusive, underlying mechanisms have to be revealed.

Mechanisms of perinatal programming

One example of a hormone potentially involved in fetal programming is leptin. It could be shown that the fat-derived messenger for the body's energy stores is needed in the first

weeks of life in rodents to establish the neuronal structures in the hippocampus area that is responsible for the regulation of energy and appetite homeostasis.

Another mechanism of fetal programming involving increased mineralocorticoid activity is the 11 β hydroxysteroid dehydrogenase (11 β HSD). This enzyme, situated in the renal distal tubular cells, converts active cortisol into inactive cortisone. Under physiological circumstances this protects the mineralocorticoid receptor from stimulation by cortisol. In the IUGR rat model, renal 11 β HSD expression is reduced, allowing for more mineralocorticoid activity of the enzyme (Bertram et al., 2001). Interestingly, there is a reduction of the 11 β HSD in the human placenta of pregnancies complicated by IUGR (Struwe et al., 2007). This might imply that maternal cortisol, which is usually inactivated by the placental 11 β HSD2 can pass to the fetus. As a consequence, cortisol may lead to growth restriction and potentially to a programming of the renal 11 β HSD in the unborn child (Bertram et al., 2001).

References

1. Gamborg M, Byberg L, Rasmussen F, Andersen PK, Baker JL, Bengtsson C, Canoy D, Drøygild W, Eriksson JG, Forsén T, Gunnarsdóttir I, Järvelin MR, Koupil I, Lapidus L, Nilsen TI, Olsen SF, Schack-Nielsen L, Thorsdóttir I, Tuomainen TP, Sørensen TI; NordNet Study Group. Birth weight and systolic blood pressure in adolescence and adulthood: meta-regression analysis of sex- and age-specific results from 20 Nordic studies. *Am J Epidemiol.* 2007;166:634-45.
2. Huxley R, Neil A, Collins R. Unravelling the fetal origins hypothesis: is there really an inverse association between birth weight and subsequent blood pressure? *Lancet.* 2002;360:659-65.
3. Plagemann A. Perinatal nutrition and hormone-dependent programming of food intake. *Horm Res.* 2006;65 Suppl 3:83-9.
4. Nüsken KD, Dötsch J, Rauh M, Rascher W, Schneider H. Uteroplacental insufficiency after bilateral uterine artery ligation in the rat: impact on postnatal glucose and lipid metabolism and evidence for metabolic programming of the offspring by sham operation. *Endocrinology.* 2008;149:1056-63.
5. Plank C, Östreicher I, Hartner A, Marek I, Struwe FG, Amann K, Hilgers KF, Rascher W, Dötsch J. Intrauterine growth retardation aggravates the course of acute mesangioproliferative glomerulonephritis in the rat. *Kidney Int.* 2006; 70:1974-82
6. Plank C, Grillhösl C, Östreicher I, Meißner U, Struwe FG, Rauh M, Hartner A, Rascher W, Dötsch J. Transient growth hormone therapy to rats with low protein-inflicted intrauterine growth restriction does not prevent elevated blood pressure later in life. *Growth factors.* In press.
7. Ravelli AC, van der Meulen JH, Michels RP, Osmond C, Barker DJ, Hales CN, Bleker OP. Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet.* 1998; 351:173-7.
8. Stanner SA, Yudkin JS. Fetal programming and the Leningrad Siege study. *Twin Res.* 2001;4:287-92.
9. Singhal A, Cole TJ, Fewtrell M, Kennedy K, Stephenson T, Elias-Jones A, Lucas A. Promotion of faster weight gain in infants born small for gestational age: is there an adverse effect on later blood pressure? *Circulation* 2007; 115:213-20.
10. Bertram C, Trowern AR, Copin N, Jackson AA, Whorwood CB. The maternal diet during pregnancy programs altered expression of the glucocorticoid receptor and type 2 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase: potential molecular mechanisms underlying the programming of hypertension in utero. *Endocrinology* 2001, 142: 2841-53.
11. Struwe E, Berzl D, Schild RL, Beckmann MW, Dörr HG, Rascher W, Dötsch J. Simultaneously reduced gene expression of cortisol-activating and cortisol-inactivating enzymes in placentas of small-for-gestational-age neonates. *Am J Obstet Gynecol.* 2007, 197:43.e1-6

SÍNDROMES GENÉTICOS ASOCIADOS CON INSULINO RESISTENCIA GRAVE

Raquel Barrio

Unidad de Diabetes Pediátrica. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

La insulina es una hormona anabólica esencial para el crecimiento y desarrollo tisular así como para el mantenimiento de las homeostasis de la glucosa, lípidos y proteínas. Los principales tejidos diana de la insulina son el músculo, el hígado y el tejido adiposo. La insulina favorece el transporte y utilización de la glucosa, el almacenamiento de nutrientes, la diferenciación y crecimiento celular, la estimulación de la síntesis de conjugados glucídicos, lípidicos y protéicos. Por ello, defectos en la acción de la insulina alteran de manera importante la homeostasis de los nutrientes.

La insulino resistencia (IR) se define por una disminución del efecto biológico de la insulina en los diferentes tejidos diana. En patología humana se encuentra una IR multifactorial en la diabetes tipo 2, en la obesidad, en el síndrome de ovarios poliquísticos (SOP) y en el síndrome metabólico. Pero además, existen formas severas de IR que comprende síndromes raros monogénicos que pueden ser diagnosticados desde el nacimiento hasta la edad adulta.

La insulina ejerce su acción activando sus receptores de membrana. El receptor de insulina pertenece a la familia de los receptores de factores de crecimiento, en razón de su actividad enzimática tirosin kinasa. Esta familia incluye, además, el receptor de IGF-1 y el receptor huérfano relacionado con el receptor de insulina¹. Tanto la insulina como la IGF1 se unen al receptor de la otra hormona aunque con menos afinidad.

El receptor de insulina es una glucoproteína de superficie celular formada por cuatro subunidades idénticas dos a dos, dos subunidades α y dos subunidades β , unidas entre ellas por dos puentes disulfuro. Las subunidades α son extracelulares y contienen los lugares de unión a la insulina. La subunidad β tiene un dominio extracelular, un dominio transmembrana y un dominio intracelular con actividad tirosin kinasa. La activación de la actividad kinasa induce la activación de una serie de proteínas de señalización, conduciendo por una parte a la activación de enzimas efectoras implicadas en los efectos metabólicos de la insulina y por otra parte, a una cascada de fosforilización implicada en las actividades génicas. La activación del receptor de insulina permite el transporte de la glucosa al interior de la célula. Este receptor está presente en todos los tejidos y es particularmente abundante en el tejido adiposo y en el hígado. El receptor completo de insulina se expresa en dos diferentes isoformas que resultan de un *splicing* alternativo del exón 11. Factores hormonales y metabólicos pueden regular este *splicing* alternativo de manera tejido específica. Estas isoformas son funcionalmente diferentes. Alteraciones en la abundancia de los dos isoformas del receptor en los tejidos diana puede contribuir a la IR¹.

El receptor de la insulina es producto de un solo gen que tiene 22 exones y está situado en el brazo corto del cromosoma 19 en p13.2. Codifica una proteína de 1355 aminoácidos. Desde el exón 1 al 11 codifican la subunidad α completa y del exón 12 al 22 codifican la subunidad β . Toda mutación del receptor de insulina induce una disminución de la entrada de la glucosa en la célula y es el origen del cuadro de insulino resistencia.

Resistencia insulínica

Los síndromes de insulino resistencia monogénica comprenden un grupo de entidades poco frecuentes que comparten algunos hechos clínicos como son la presencia de acantosis nígr-

cans y el hiperandrogenismo pero tienen, cada uno de ellos, aspectos clínicos específicos². Los pacientes con resistencia extrema a la insulina pueden permanecer euglicémicos mientras las células β produzcan suficiente cantidad de insulina para compensar su defecto de acción, presentar solo hiperglucemia postprandial o diabetes franca.

Para su caracterización, en los pacientes con niveles normales de glucosa que no reciben insulina exógena, el nivel de insulina basal o tras sobrecarga oral de glucosa es un buen índice de la severidad de la IR. En la práctica, una relación insulina /glucosa en ayunas $> 0,2$ es testigo de la presencia de IR. En los defectos genéticos de IR la insulinemia suele ser superior a 1000 $\mu\text{U/ml}$. Hay otros estudios complementarios para evaluar la severidad de la IR y se basan en administrar insulina exógena. Así tenemos el test de tolerancia a la insulina, que analiza el descenso de glucosa ante un bolus intravenoso de insulina. En el individuo normal, después de la administración de 0,1 u/kg de insulina se reduce el nivel de glucosa en un 50% o provoca una hipoglucemia franca. Si el paciente requiere más de 0,3 u/kg para poder inducir la hipoglucemia el diagnóstico de IR graves es claro. El "gold standard" para medir la acción de la insulina es el clamp euglicémico hiperinsulinémico pero es difícil de realizar.

Síndromes genéticos asociados a resistencia grave a la insulina

Representan el final del espectro de la resistencia a la insulina. En general, son producidos por defectos genéticos en la vía de la acción de la insulina o por la presencia de autoanticuerpos contra el receptor de insulina que afecten a su función o autoanticuerpos contra la propia insulina (tabla 1).

Tabla 1: Síndromes de insulino resistencia grave

Defectos genéticos en el receptor de la insulina

- Leprechunismo: Síndrome de Donahue
- Síndrome de Rabson-Mendenhall
- Tipo A de insulino resistencia

Inmunológico

- Tipo B de insulina resistencia (anticuerpos antireceptor)
- Anticuerpos contra la insulina

Diabetes lipoatrófica congénita

- Lipoatrofia congénita generalizada:
 - mutaciones en el gen AGPAT2
 - mutaciones en el gen BSCL2
- Lipodistrofia parcial familiar
 - mutaciones en el gen LMNA: Síndrome de Dunnigan
 - mutaciones en el gen PPAR- γ

1. Síndromes debidos a mutaciones en el gen del receptor de la insulina

El receptor de insulina es crucial para la acción de esta hormona y por eso, defectos en la función del receptor causan síndromes genéticos asociados a IR. Suelen ser de herencia autonómica recesiva y pueden actuar interfiriendo la síntesis y procesamiento post-translacional, incrementando la degradación del receptor o reduciendo la unión de la insulina al receptor. Son muy infrecuentes y el espectro clínico es muy amplio.

En general, el genotipo de la mutación parece ser el mayor determinante del fenotipo, pero parece probable que otros genes puedan tener un impacto en el síndrome clínico del pa-

ciente². Más de 60 mutaciones han sido descritas en el gen del receptor de insulina y hay tres síndromes clínicos asociados con estas mutaciones.

La forma más grave de IR asociada a mutaciones en el receptor de insulina es el leprechaunismo o Síndrome de Donohue³ (OMIM # 246200) [<1:1000000 RN]. Asocia múltiples anomalías incluyendo: fenotipo peculiar con dismorfia facial: "cara de duendecillo", alas de la nariz gordas y grandes, labios prominentes, orejas grandes, exceso de piel en cuello sin pterigium y exoftalmia. Además, presentan una pérdida casi total del tejido adiposo, retraso de crecimiento intrauterino, hipoglucemia en ayunas e intolerancia a la glucosa a pesar de niveles de insulina muy elevados. Este síndrome se asocia con mutaciones homocigotas o heterocigotas compuestas en las regiones codificantes o reguladoras de ambos alelos del gen del receptor de la insulina. Muy pocos pacientes tienen dos alelos nulos y pierden totalmente la función de los receptores de insulina. En general, estos pacientes son homocigotas para mutaciones inactivadoras del gen del receptor y la mayoría de los pacientes mueren antes de los dos años de vida, aunque la utilización actual de IGF-1 parece ser eficaz, a corto plazo^{4,5}.

Existe otra forma menos grave de IR conocida como Síndrome de Rabson-Mendenhall³ (OMIM#262190) descrito por primera vez en 1956. Es secundario a mutaciones en los dos alelos del gen del receptor de la insulina (homocigotas o heterocigotas compuestas) que afectan al dominio intracelular o al dominio de unión del receptor que conducen a la síntesis de un receptor de insulina defectuoso pero presente. Se transmiten con una herencia autonómica recesiva. En estos pacientes además de la IR, que es intermedia entre la presentada en el leprechaunismo y el tipo A de IR, se asocian retraso de crecimiento intrauterino y postnatal, facies acromegaloide, signos de IR extrema como acantosis nigricans, anomalías dentarias con dentición precoz, displasia ungueal, abundante cabello, hiperqueratosis cutánea, hipotonía abdominal así como genitomegalia e hiperplasia de la pineal. Los pacientes pueden sobrevivir hasta la adolescencia.

La forma más leve se conoce como síndrome tipo A de IR de Kahn (OMIM # 147670) y se presenta en mujeres jóvenes. Es definida por la triada de hiperandrogenismo con SOP, IR y acantosis nigricans en ausencia de obesidad o lipoatrofia⁶. Muchos de estos pacientes son heterocigotas para mutaciones en el gen del receptor de la insulina, especialmente, mutaciones en el dominio tirosin kinasa del receptor² aunque algunos son homocigotas para mutaciones que producen defectos leves en la función del receptor de insulina. Se han descrito más de 30 mutaciones.

2. Tipo B de insulino resistencia

Causado por la existencia de anticuerpos contra el receptor de insulina⁷. Es debido a un defecto en la regulación del sistema inmune más que a una anomalía en los receptores tisulares de insulina. Estos anticuerpos son anticuerpos policlonales de clase IgG. Este cuadro de IR es más frecuente en mujeres adultas, entre la cuarta y sexta década. A veces se asocia a otros síndromes de autoinmunidad. Aunque suelen causar IR hay casos descritos en que producen hipoglucemia e incluso puede haber fluctuación entre ambas manifestaciones. Esto puede ser debido a cambios en la cantidad y actividad de los autoanticuerpos libres en la circulación, que pueden tener un efecto variable en la acción de la insulina en los tejidos diana. Un grupo de pacientes experimentan remisiones espontáneas en un periodo de 2 a 3 años. Para su tratamiento, además del tratamiento inmunosupresor y plasmaferesis, la administración de IGF-1 recombinante ha mejorado la sensibilidad a la insulina y el control glucémico en algunos pacientes⁸.

En el síndrome de ataxia telangiectasia que comprende: ataxia cerebelosa progresiva, telangiectasias oculocutáneas, infecciones recurrentes del tracto respiratorio y diversas anomalías

inmunológicas, se han descrito autoanticuerpos contra el receptor de insulina de tipo IgM⁹. El 60% de los pacientes tienen intolerancia a la glucosa, hiperinsulinemia y disminución de la sensibilidad a la insulina exógena.

3. La diabetes lipoatrófica congénita

Comprende un grupo genéticamente heterogéneo de síndromes raros caracterizados por diabetes resistente a la insulina asociados a una pérdida completa o parcial de tejido adiposo. Los sujetos afectados suelen presentar también hipertrigliceridemia, acantosis nígricans, esteatosis hepática, SOP e hipertensión. Hay una considerable variación en la distribución de la lipoatrofia con una forma generalizada y otra parcial. Los modelos animales de lipoatrofia han demostrado que la pobreza de tejido adiposo juega un papel causal en la patogenia de la resistencia a la insulina¹⁰.

- La lipoatrofia congénita generalizada (*Síndrome de Berardinelli-Seip*) [OMIM#269700]

Es un síndrome raro: dos a tres casos por millón. Es de herencia autosómica recesiva. Hay igual afectación de varones y mujeres, siendo frecuente la consanguinidad entre los padres. Se caracteriza por ausencia generalizada, ya en el primer año de vida, del tejido adiposo subcutáneo con hipertrofia muscular. Otras características del síndrome se manifiestan más tarde, a lo largo de la infancia, como son la IR severa con diabetes no cetósica en la pubertad y la acantosis nígricans. En contraposición con lo que ocurre en la forma dominante en esta se afecta la grasa facial y bucal. Sin embargo, se mantiene el tejido graso de palmas, plantas, cuero cabelludo y zona perineal. El crecimiento y la maduración ósea suele estar acelerado en los cuatro a cinco primeros años de la vida y puede haber rasgos acromegaloides. La hernia umbilical es común. La hepatomegalia, resultante del incremento del acumulo de lípidos y glucógeno, se observa con frecuencia. A nivel biológico, la leptina es la base, existe una dislipemia con hipertrigliceridemia grave con xantomas, lipidemia retinialis y cuadros recurrentes de pancreatitis. En las mujeres afectas es común la existencia de SOP con irregularidades menstruales. También se ha asociado retraso mental, alteraciones psiquiátricas y alteraciones intracerebrales en la región del tercer ventrículo. Este síndrome se debe a mutaciones en el gen AGPAT2¹¹ localizado en el cromosoma 9q34 que codifica una aciltransferasa o en el gen BSCL2 localizado en el cromosoma 11q13 que codifica la seipinina cuya función es desconocida¹² y con poca homología con las proteínas conocidas. Esta proteína tiene una expresión importante a nivel del SNC. En otro grupo de pacientes (< del 2%) no se han encontrados mutaciones en estos dos genes lo que sugiere que pueda haber otros loci implicados.

- La lipodistrofia parcial familiar o síndrome de Dunnigan (MIM#151660)

Esta forma de lipoatrofia aunque rara es una de las encontradas con mayor frecuencia (1/100000). En general, el diagnóstico es clínico en la mujer y más difícil en el hombre. Se hereda de manera autosómica dominante ligada a mutaciones heterocigotas en el gen LMNA localizado en el cromosoma 1q21-23 que codifica las proteínas laminina A y C productos diferentes de un *splicing* alternativo. La laminina es una proteína del envolvimiento nuclear de la que no se conoce exactamente su acción. La caracterización genética de 10 familias demostró ligazón al cromosoma 1q, con evidencia de un haplotipo fundador común^{13,14}.

La expresividad clínica es muy heterogénea. El fenotipo se caracteriza por la aparición en la pubertad de un cuadro que comprende la lipoatrofia, en base a la distribución de esta se han descrito dos subtipos clínicos: el *subtipo 1* en el que la pérdida de grasa subcutánea está confinada a las extremidades inferiores protegiendo la cara, el tronco y los depósitos grasos intracavitarios y el *subtipo 2* en el que el tronco, con excepción de la vulva, está también afecto, dando la impresión de hipertrofia labial. En general, estos pacientes parecen tener una distribución normal de la grasa al nacimiento, luego comienzan a perder grasa subcutánea al comienzo de la pubertad. Al final de la pubertad hay un incremento del tejido adiposo en cara y cuello

que se cree que es una hipertrofia compensatoria para acomodar grasa que normalmente se acumula en otros depósitos grasos¹⁵. Persiste la grasa visceral e interfascicular muscular.

Junto a la lipoatrofia existe IR con hepatomegalia esteatósica responsable de una cistolisis, acantosis nigricans inconstante y rasgos pseudoacromegaloides. En la mujer existen ovarios micropoliquísticos asociados a veces hiperandrogenismo severo e hipertrofia de clítoris. El síndrome dismórfico es constante con diámetro biacromial superior al diámetro bitrocantéreo, miembros inferiores cortos, manos pequeñas y dolorosas. La afectación miopática debe ser buscada, se encuentra amiotrofia perihumeral, pseudohipertrofia de pantorrillas, marcha bamboleante y alteraciones de la estática vertebral con cifosis o hiperlordosis posiblemente secundaria a una deficiencia muscular. Asociado a la pérdida de tejido graso existe hiperlipidemia severa con xantomas tuberosos, elevación del metabolismo basal y diabetes resistente a la insulina sin cetoacidosis. Los niveles de leptina están disminuidos pero presentes con aumento moderado de las enzimas musculares en el 75% de los casos.

Existe otro síndrome de lipodistrofia parcial familiar extremadamente raro que parece estar producido por mutaciones en el gen PPAR- γ (perixisome proliferator-activated receptor γ)¹⁶. Asocia IR e hipertensión e intensa acantosis nigricans, estos hechos no están presentes en todos los pacientes¹⁷. Tienen pérdida significativa de grasa en extremidades inferiores y sobre todo en glúteos con incremento de la grasa visceral. La pérdida de grasa no es evidente al nacimiento, comienza en la edad adulta.

Tratamiento de los síndromes de IR extrema

El tratamiento de estos síndromes es difícil y comprende: ejercicio físico, la utilización de sensibilizadores a la insulina tipo metformina o glitazonas e insulina con preferencia análogos de acción rápida. En ensayos clínicos se ha demostrado la eficacia de la leptina^{18,19} para el tratamiento de los síndromes lipoatróficos y en los secundarios a mutaciones de receptor de la insulina. El tratamiento con IGF1 recombinante se ha ensayado en pacientes con IR debida a mutaciones del receptor de insulina⁵.

Referencias

1. Sesti G. Pathophysiology of insulin resistance. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 2006;20:665-679.
2. Taylor SI. Lilly Lecture: molecular mechanisms of insulin resistance: lessons from patients with mutations in the insulin receptor gene. *Diabetes* 1992;41:1473-1490.
3. Taylor SI, Cama A, Accili D, Barbetti F, Quon MJ, de la Luz Sierra M. et al. Mutations in the insulin receptor gene. *Endocr Rev* 1992;13:566-595.
4. Makae J, Kato M, Murashita M, Shinohara N, Tajima T, Fujieda K. Long-term effect of recombinant human insulin-like growth factor I on metabolic and growth control in a patient with leprechaunism. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:542-549.
5. McDonald A, Williams RM, Regan FM, Semple RK, Dunger DB. IGF-I treatment of insulin resistance. *Eur J Endocrinol* 2007;157:S51-S56.
6. Musso C, Cochran E, Moran SA, Skarulis MC, Oral EA, Taylor S, Gorden P. Clinical course of genetic diseases of the insulin receptor (Type A and Rabson-Mendenhall syndromes). A 30-year prospective. *Medicine* 2004;83:209-222.
7. Kahn CR, Flier JS, Bar RS, Archer JA, Gorden P, Martin M et al. The syndromes of insulin resistance and acanthosis nigricans: insulin-receptor disorders in man: *N Engl J Med* 1976;294:739-745.
8. Gabbay RA, O'Brien M, Moses AC. Rh-IGF-1 improves insulin sensitivity and glycemic control in some patients with the type B syndrome of severe insulin resistance. *Diabetes* 1999;48:A93 (abst).
9. Bar RS, Levis WR, Rechler NM, Harrison LC, Siebert C, Podskalny J et al. Extreme insulin resistance in ataxia telangiectasia: defect in affinity of insulin receptors. *N Engl J Med* 1978;298:1164-1171.
10. Reitman M, Arioglu E, Gavrilova O, Taylor SI. Lipoatrophy revisited. *Trends Endocrinol Metab* 2000;11:410-416.
11. Agarwal A, Arioglu E, De Almeida S, Akkoc N, Taylor SI, Bowcock AM et al. AGPAT2 is mutated in congenital generalized lipodystrophy linked to chromosome9q34. *Nat Genet* 2002;31:21-23.
12. Magre J, Delphine M, Khallouf E, Gedde-Dahl T Jr, Van Maldergem L, Sobel E et al. Identification of the gene altered in Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy on chromosome 11p13. *Nat Genet* 2001;28:365-370.
13. Jackson SN, Pinkney J, Bargiotta A, Veal CD, Howlett TA, McNally PG, et al. A defect in the regional deposition of adipose tissue (partial lipodystrophy) is encoded by a gene at chromosome 1q. *Am J Hum Genet* 1998;63:534-540.
14. Shackleton S, Lloyd DJ, Jackson SN, Evans R, Niermeijer MF, Singh BM, et al. LMNA, encoding lamin A/C, is mutated in partial lipodystrophy. *Nat Genet* 2000;24:153-156.
15. Garg A, Peshock R, Fleckenstein J. Adipose tissue distribution pattern in patients with familial partial lipodystrophy (Dunnigan variety). *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:170-174.
16. Barroso I, Gurneill M, Crowley V, Agostini M, Schwabe JW, Soos MA, et al. Dominant negative mutations in human PPAR gamma associated with severe insulin resistance, diabetes mellitus and hypertension. *Nature* 1999;402:880-883.
17. Agarwal A, Garg A. A novel heterozygous mutation in peroxisome proliferator activated receptor gamma gene in a patient with familial partial lipodystrophy. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:408-411.
18. Shimomura I, Hammer RE, Ikemoto S, Brown MS, Goldstein JL. Leptin reverses insulin resistance and diabetes mellitus in mice with congenital lipodystrophy. *Nat* 1999;401:73-76.
19. Cochran E, Young JR, Sebring N, Paoli A, Oral EA, Gorden P. Efficacy of recombinant methionyl human leptin therapy for the extreme insulin resistance of the Rabson-Mendenhall Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:1548-1554.

ENFOQUE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE LOS DEFECTOS GENÉTICOS DE FUNCIÓN DE LA CÉLULA BETA, EN LOS PRIMEROS MESES DE LA VIDA

I. Rica, A. Vela, G. Pérez de Nanclares, G. Grau, L. Castaño y P. Martul

Endocrinología Pediátrica. Laboratorio de Investigación. Hospital de Cruces. Bizkaia

Durante la última década se han descrito genes cuya alteración conlleva una disfunción de la célula beta y por lo tanto una diabetes. Este hecho ha permitido clasificar desde un punto de vista fisiopatológico a pacientes que previamente se diagnosticaban de padecer una diabetes neonatal ó una diabetes tipo MODY (Maturity-onset diabetes of the young). El conocimiento exacto del tipo de alteración genética que padecen, permite dar un consejo genético adecuado, informar con mayor precisión sobre el pronóstico de la patología e instaurar, en algunos casos, un tratamiento específico diferente de la insulino terapia.

Fruto de estos avances genéticos debemos utilizar una terminología diferente para clasificar esta patología e incluir el subgrupo de "diabetes monogénica", que engloba a las anteriormente clasificadas como diabetes tipo MODY y diabetes neonatal.

La diabetes monogénica, en global constituye un 2-3% de la diabetes. Es posible que su prevalencia sea mayor y que algunos pacientes diagnosticados de diabetes tipo 1 ó diabetes tipo 2, padezcan mutaciones genéticas no conocidas. Nos debemos de plantear esta opción diagnóstica en diabetes infantil diagnosticada en los primeros años de la vida sin autoanticuerpos antipáncreáticos, en pacientes adultos con diabetes que no asocian obesidad ni insulinoresistencia, y en familias en las que exista una carga de herencia autonómica dominante de diabetes.

Las situaciones clínicas concretas sugestivas de diabetes monogénica más frecuentes son:

- Diabetes diagnosticada en los 6 primeros meses de la vida: en este subgrupo las causas más frecuentes son las alteraciones en el canal de K⁺sensible al ATP de la célula beta; este subgrupo de pacientes son susceptibles de un tratamiento con dosis altas de sulfonilureas. Otras causas de diabetes en los primeros meses de la vida son mutaciones en el gen de la insulina y alteraciones en 6q24; en ambas situaciones se precisa de un tratamiento insulínico.
- Pacientes con una hiperglucemia en ayunas leve y estable: la primera causa de esta situación es una mutación en el gen de la glucokinasa. Estos pacientes no precisan de ningún tratamiento específico.
- Pacientes con diabetes familiar de inicio infanto-juvenil, sin autoinmunidad antipáncreática: pueden tener mutaciones en los factores de transcripción HNF-1 α ó HNF-4 α , situación susceptible de tratamiento con dosis bajas de sulfonilureas.
- Diabetes que se asocian a alteraciones a otros niveles: manifestaciones renales (mutaciones del gen HNF-1 β) ó sordera (mutación mitocondrial m.3243A>G), entre otras. En ambas el tratamiento de elección es insulina.

En este capítulo nos vamos a centrar en la diabetes monogénica, clínicamente relevante, que se diagnostica en los primeros 6 meses de la vida. Veremos cuales son las mutaciones genéticas que con más frecuencia la originan, cómo son las manifestaciones clínicas de los pacientes y cual es el

tratamiento más eficaz en cada caso. Siendo conscientes de que una diabetes por mutación en el gen de la glucocinasa puede causar una hiperglucemia basal leve desde el nacimiento, no vamos a profundizar en esta enfermedad porque clínicamente conlleva ninguna manifestación.

1 Etiología de la diabetes monogénica diagnosticada en los primeros meses de la vida

En el grupo de pacientes con diabetes diagnosticada en los primeros 6 meses de la vida la prevalencia de diabetes monogénica es muy elevada, y la autoinmunidad como causa de diabetes, es excepcional. Clásicamente se conocía la existencia de 2 formas clínicas de la anteriormente denominada "diabetes neonatal", una forma transitoria con remisión espontánea en los primeros meses de la vida y otra forma de diabetes permanente. Se han implicado numerosos genes en la etiopatogenia de este tipo de diabetes pero el 80-90% de los casos se originan por alteraciones localizadas a 3 niveles: genes que codifican las subunidades del canal de K^+ sensible al ATP, genes situados en el brazo largo del cromosoma 6 y el gen de la insulina.

Desde el punto de vista epidemiológico, tradicionalmente la incidencia de la diabetes en los 6 primeros meses de la vida se establecía en torno a 1/400.000 recién nacidos vivos. En la actualidad, hay datos que apoyan una prevalencia mayor. Recientemente se ha publicado un estudio en población de Eslovaquia, en base al registro nacional de diabetes, donde se estima una incidencia de esta enfermedad en 1/100.000 recién nacidos vivos¹.

Desde el punto de vista clínico en el 50-60% de los casos la diabetes que se diagnostica en los primeros meses de la vida es transitoria (DNT). El mayor porcentaje de transitoriedad se debe a alteraciones en genes situados en una región del brazo largo del cromosoma 6 (6q24). En segundo lugar, la DNT se debe a alteraciones en el gen que codifica la subunidad SUR1 de los canales de K^+ sensibles al ATP de la célula β y un menor porcentaje se debe a alteraciones en el gen que regula la subunidad KIR6.2 del mismo canal.

La causa más frecuente de diabetes permanente diagnosticada en los primeros meses de la vida (DNP) se debe a alteraciones en el gen que codifica la subunidad KIR6.2 del canal de K^+ , en segundo lugar se encuentran mutaciones en el gen de la insulina y en tercer lugar alteraciones en la subunidad SUR1. Existe un pequeño porcentaje de pacientes con DNP sin causa conocida hasta el momento, y otros genes que de forma excepcional se han encontrado mutados en pacientes con DNP, muchas veces en el contexto de enfermedades multisistémicas.

1.1 Alteraciones en los canales de K^+ sensibles al ATP

Los canales de K^+ sensibles al ATP (K^+ -ATP) son complejos hetero-octaméricos constituidos por 4 subunidades Kir6.2, codificadas por el gen *KCNJ11* y 4 subunidades SUR1, codificadas por el gen *ABCC8*. Están situados en las membranas de algunos tipos celulares, que incluyen la célula β . En éstas acoplan el metabolismo intracelular que finaliza con la secreción de insulina, a la carga eléctrica de la membrana celular. Cuando la glucosa se introduce en la célula y se fosforila a glucosa 6-fosfato se inicia una ruta metabólica que origina un aumento del cociente ATP/ADP intracelular. El incremento del ATP estimula el canal provocando su cierre que causa la despolarización de la membrana celular y la apertura de los canales de Ca^{++} . El aumento de los niveles de Ca^{++} intracelular favorece la transcripción de factores intranucleares que finalizan con la síntesis y posterior liberación de insulina, como se refleja en la figura 1.

Se han descrito mutaciones activantes en heterocigosis, que afectan tanto al gen *KCNJ11* como al *ABCC8*, que originan una disminución de la capacidad de cierre de los canales. En estas situaciones hay una mayor proporción de canales que se mantienen abiertos y por lo tanto, un descenso en la secreción de insulina que origina una diabetes en los primeros meses de la vida^{2,3,4,5}.

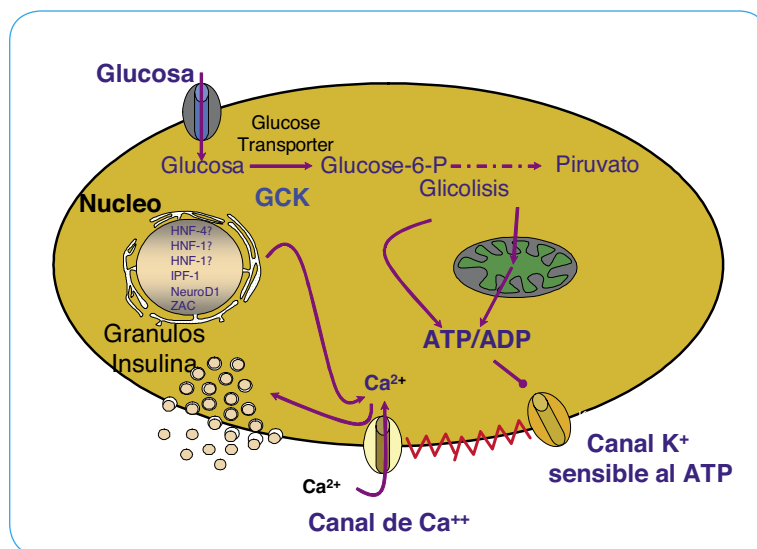


Figura 1

El mecanismo fisiopatológico que causa la alteración funcional del canal es diferente en los dos subgrupos. En la mayoría de las mutaciones que afectan a la subunidad Kir6.2 hay una disminución de la sensibilidad de dicha subunidad al ATP; en un menor porcentaje de pacientes estas mutaciones afectan a la posibilidad intrínseca de cierre del canal sin que existan cambios en la sensibilidad al ATP. En general, este segundo mecanismo conlleva una mayor severidad de la alteración funcional del canal^{2,6}.

En las mutaciones activadoras que afectan a la subunidad SUR1 existe una mayor estimulación del la subunidad SUR por el Mg^{++} , una menor proporción de canales cerrados y por ello un descenso de la secreción de insulina⁷.

Desde el punto de vista clínico, los niños con diabetes secundaria a alteraciones en el canal de K^+ tienen datos que los diferencian de los secundarios a alteraciones en el cromosoma 6. La diabetes se diagnostica en los primeros 6 meses de la vida, casi siempre en los primeros 3. Tienen una discreta disminución del peso neonatal que se sitúa en los percentiles bajos de la normalidad y un índice ponderal adecuado; son por lo tanto recién nacidos armónicos⁸. Este hecho refleja una menor disminución de insulina en la etapa intrauterina que la que existe en pacientes con DNT secundaria a alteraciones en el cromosoma 6. En un 30-40% de las ocasiones hay cetoacidosis al debut.

En la mayor parte de las ocasiones las mutaciones que afectan a la subunidad Kir6.2 provocan una diabetes permanente a diferencia de lo que ocurre en las mutaciones que afectan a la subunidad SUR1^{7,9}. En las formas transitorias por alteración del canal de K^+ la remisión de la enfermedad es tardía habiéndose descrito casos en los que se produjo a los 18 meses de vida, y se han descrito recidivas de la diabetes en etapas posteriores de la vida.

En las mutaciones que afectan a la subunidad Kir6.2 existe una buena correlación genotipo-fenotipo¹⁰. Hay mutaciones que tienen una menor afectación funcional del canal y provocan solo una diabetes transitoria. Otras con mayor severidad funcional dan lugar a una forma permanente. Por último, dado que los canales de K^+ se distribuyen por otros órganos de la economía, fundamentalmente músculo y neuronas, hasta un tercio de los pacientes asocian alteraciones neurológicas con un espectro amplio de manifestaciones. Las mutaciones más severas ocasionan el denominado síndrome DEND que conlleva diabetes neonatal permanente, retraso del desarrollo neurológico y epilepsia.

En los pacientes con afectación en la subunidad SUR1, no hay una clara correlación fenotipo-genotipo¹¹. Hay pacientes con formas transitorias portadores de mutaciones activadoras en heterocigosis, otros con mutaciones en homocigosis y hay portadores en heterocigosis de algunas de las mutaciones que no han desarrollado la enfermedad. Un pequeño porcentaje de pacientes presentan alguna alteración neurológica, en general leve.

De cara al consejo genético, en la mayoría de pacientes con diabetes por mutación en heterocigosis en el canal de K⁺ las mutaciones son de novo. Los portadores de esta enfermedad pueden transmitirla al 50% de su descendencia. Los progenitores sanos tienen un riesgo mínimo, pero existente, de transmitirla a un nuevo hijo dado que se han descrito casos de mosaicismo en línea germinal en algunas familias^{12,13}. En un 40% de los afectados por mutaciones en *ABCC8* se ha demostrado una herencia autosómica recesiva¹¹. En estos casos, la posibilidad de repetir la enfermedad en un hermano es del 25% pero el afectado tiene un riesgo muy bajo de transmitirla a su descendencia.

1.2 Diabetes por alteraciones en el cromosoma 6

Hace ya una década se comprobó que algunos pacientes con diabetes diagnosticada en los primeros días de vida tenían una doble carga genética a nivel de la banda 24 del brazo largo de cromosoma 6 (6q24)^{14,15,16}. En esta localización existen unos genes que se heredan siguiendo un mecanismo de "imprinting materno", los genes *PLAGL1* ("pleiomorphic adenoma gene-like1", también denominado represor tumoral *ZAC*) y *HYMAI* ("hydatidiform mole associated and imprinted gene")¹⁴. En condiciones normales, los genes procedentes del cromosoma materno sufren una metilación que hace que se inactiven y solo expresamos los genes procedentes del alelo paterno. Muchos de los pacientes con diabetes neonatal transitoria tienen una doble carga genética a este nivel. Esta alteración puede originarse por 3 mecanismos:

- Isodisomía paterna: el paciente tiene los dos cromosomas 6 procedentes del padre por un error en la meiosis. Son casos esporádicos.
- Duplicación de la región 6q24 procedente del padre: el paciente tiene duplicada la región 6q24 porque hereda la alteración de su padre. El progenitor puede haber sufrido la enfermedad ó no haberlo hecho; si heredó la duplicación de su madre, como la región está imprintada no la manifiesta. Sin embargo, en todos los casos puede transmitirla al 50% de su descendencia
- Ausencia de metilación en el cromosoma materno: en un pequeño porcentaje de pacientes la doble carga se origina por un fallo de la metilación en el cromosoma materno que hace que no se inactive.

Desde el punto de vista clínico son recién nacidos pequeños para la edad gestacional, con un peso inferior al percentil 3 debido a la disminución de insulina intraútero, especialmente en el último trimestre de la gestación. El peso medio oscila en torno a 1.800-2.000 gr. Estos recién nacidos tienen un índice ponderal disminuido, dato que refleja que la falta de insulina es fundamentalmente al final de la gestación cuando el feto ya ha alcanzado su longitud casi final⁸. La diabetes se diagnostica típicamente en los primeros días de la vida, generalmente durante la primera semana y en ausencia de cetoacidosis. La remisión de la diabetes se produce típicamente en el 3^{er} o 4^o mes de vida. Por un mecanismo que no conocemos con exactitud, se produce una recuperación progresiva de la función de la célula β que permite suprimir la terapia durante un periodo de tiempo variable.

La diabetes secundaria a alteraciones en 6q24 es una enfermedad crónica que se desarrolla en 3 fases: diagnóstico neonatal de diabetes, periodo de remisión sin repercusiones clínico-metabólicas, y recidiva de la diabetes en la mayoría de los casos a partir de la pubertad^{14,17}. No

se conoce cual es el mecanismo íntimo de la alteración funcional de la célula β . Existe una disminución en la secreción de insulina presente en la vida intrauterina que se mantiene inmediatamente tras el nacimiento y una rápida recuperación funcional posterior. Se han realizado estudios de función pancreática en pacientes durante los años de remisión de la enfermedad con un resultado variable. En algunos casos se ha documentado una disminución en la secreción precoz de insulina, tras la sobrecarga intravenosa de glucosa¹⁸. Se piensa que situaciones que conlleven insulinoresistencia a lo largo de la vida son las que precipitan de nuevo en mayor deterioro funcional de la célula β y la reaparición de una diabetes. La primera de estas posibilidades en la pubertad, y es frecuente la recidiva de la enfermedad en esta etapa de la vida. Por ello, estos pacientes tienen que ser informados sobre la cronicidad de su trastorno y la necesidad de que sigan de forma periódica un control endocrinológico.

1.3 Alteraciones en el gen de la insulina

Recientemente se han publicado mutaciones en heterocigosis en el gen de la insulina en pacientes diagnosticados de diabetes permanente en los primeros meses de la vida. Stoy y cols¹⁹ mostraron la presencia de una mutación en el gen de la insulina como causa de diabetes en una familia con miembros diagnosticados de diabetes entre las 13 y 52 semanas de vida. Posteriormente el grupo francés liderado por M. Polack, investigó la prevalencia de esta posibilidad en 38 pacientes afectados de diabetes diagnosticada en los primeros meses de la vida en los que se habían descartado otras causas de diabetes monogénica. Los datos derivados de este trabajo mostraron que mutaciones "missense" en heterocigosis son responsables de un 10% de los casos. Las mutaciones descritas están situadas en la región crítica que regula la molécula de la proinsulina, y pueden afectar a la proteólisis de los precursores de la insulina ó alterar la biosíntesis de insulina, por un mecanismo que desencadene un stress en el retículo endoplásmico celular²⁰.

Desde el punto de vista clínico, los pacientes del grupo francés con diabetes secundaria a mutaciones en el gen de la insulina se diagnosticaron a una media de edad de 8 meses y algunos de ellos debutaron en cetoacidosis. El peso de los recién nacidos se situó en la parte baja de la normalidad.

Los hallazgos de Polack y cols han sido corroborados posteriormente por el estudio italiano publicado por Colombo²¹ que muestra mutaciones en el gen de insulina como causa de diabetes permanente diagnosticada en los primeros meses de la vida. El diagnóstico más precoz se hizo a los 37 días de vida. Como peculiaridad, de este tipo de diabetes, en muchas ocasiones al debut el Péptido C es detectable. Desde el punto de vista clínico, estos pacientes muestran algunas características que las diferencian de los otros subgrupos. La edad de diagnóstico es más tardía (media situada entre 2ª y 3ª mes de vida) y el peso al nacimiento de los afectados es prácticamente normal. Hasta la fecha no se han diagnosticado mutaciones en el gen de la insulina en pacientes afectados de formas transitorias de diabetes.

1.4 Causas poco frecuentes de diabetes permanente

Existen otras alteraciones genéticas conocidas que en conjunto explican un pequeño porcentaje de pacientes con diabetes permanente desde el nacimiento. En la tabla se describen las más frecuentes. Los hallazgos de otras patologías asociadas a nivel pancreático ó extrapancreático, así como la presencia de consanguinidad son signos de alerta para pensar en estas patologías.

Dentro de estas posibilidades se encuentran mutaciones en homocigosis de gen de la glucocinasa, del gen que regula el factor promotor de insulina tipo1, del gen EIF2AK3 o mutaciones en el gen GLIS3, que causa diabetes neonatal e hipotiroidismo. Se han descrito pacientes en los que mutaciones que afectan al factor de transcripción pancreático 1 α causan agenesia ó hipoplasia del páncreas con diabetes neonatal desde el nacimiento. Por último, la diabetes neonatal permanente puede ser parte de enfermedades más complejas como el síndrome de Wolcott-

Rallison (enfermedad de herencia autosómica recesiva que conlleva DNP y displasia espondiloepifisaria) o el síndrome IPEX (inmunodeficiencia severa y manifestaciones autoinmunes en las que se incluye la DNP).

Fisiopatología pancreática	Gen	Casos publicados	Herencia	Hallazgos asociados
<i>Disfunción de la célula beta</i>	GCK	6 familias	A.R	Ninguna
	SLC19A2	1 familia	A.D	Hipergalactosemia, fallo hepático
	GLIS3	6 pacientes	A.D	Hipotiroidismo, quistes renales, glaucoma, fibrosis hepática
<i>Masa pancreática disminuida</i>	PTF1A	5 casos	A.R	Agenesia pancreática y cerebelosa
	PDX1	2 casos	A.R	Agenesia pancreática
	HNF1 β	1 paciente con diabetes permanente y otro con transitoria	A.D	Insuficiencia de páncreas exocrino y quistes renales
<i>Destrucción de células beta</i>	EIF2AK3	25 pacientes	A.R	Hepatitis recurrente, fallo renal, retraso mental y displasia espondiloepifisaria
	FOXP3	17 casos	Ligada- X	Patología autoinmune, diarrea y dermatitis
	INS	21 casos	A.D	Ninguna

2 Tratamiento de la diabetes monogénica diagnosticada en los primeros meses de la vida

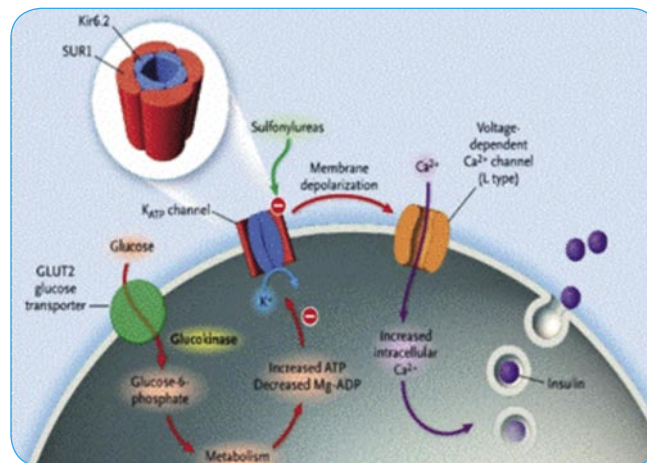
El tratamiento inicial de una diabetes diagnosticada en los primeros meses de la vida es la insulina. La respuesta clínica a esta terapia es adecuada, se corrigen la hiperglucemia y la cetoacidosis cuando existe, y se inicia una correcta ganancia ponderal. Una vez conocida la causa genética concreta, en aquellos pacientes que tienen alteraciones en el canal de K⁺-ATP el tratamiento de elección es terapia oral con sulfonilureas.

2.1 Alteraciones en los canales de K⁺ sensibles al ATP

La identificación de esta etiología en pacientes con diabetes monogénica ha supuesto un importante avance en su terapia. Hasta entonces, dado que tienen una secreción endógena disminuida de insulina y un Péptido C indetectable, eran candidatos a un tratamiento insulínico de por vida. Las sulfonilureas bloquean la subunidad SUR1 del canal favoreciendo el cierre del mismo de forma independiente a los niveles de ATP, como muestra en la figura. El 90% de los

pacientes afectados de mutaciones en Kir6.2 son susceptibles de una terapia oral eficaz que aporta una notable mejoría en su calidad de vida, y es esperable que ocurra lo mismo en mutaciones de las subunidad SUR1.

La droga que se ha empleado mayoritariamente es la glibenclamida. Las dosis que se precisan son notablemente superiores a las que se utilizan para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. La glibenclamida tiene afinidad por los receptores SUR1 a nivel de las células beta, y por los SUR2 que se distribuyen en nervios, músculo y cerebro. Las sulfonilureas no tienen aprobada su indicación terapéutica en la edad pediátrica por lo que el tratamiento debe instaurarse dentro de un ensayo clínico.



Pearson y cols²² publicaron los resultados del tratamiento con glibenclamida en 49 pacientes con mutación en Kir6.2 diagnosticados de diabetes permanente en los primeros meses de la vida. El paciente de menor edad en el cambio de terapia tenía 3 meses de vida. En esta serie la terapia fue un éxito. Se consiguió una disminución media de 1.5 en los niveles de HbA_{1c} a los 3 meses del inicio de la terapia, resultado que se mantuvo durante el primer año de tratamiento. Dentro de los efectos adversos que se han comunicado destaca solo la aparición de molestias abdominales y diarrea autolimitada, que en ningún caso obligó a suspender la medicación.

Las sulfonilureas no tienen aprobada su indicación terapéutica en la edad pediátrica por lo que el tratamiento debe instaurarse dentro de un ensayo clínico. El protocolo propuesto por grupo inglés comienza con una dosis de 0,1 mg/K/12 horas de glibenclamida que se va incrementando de forma progresiva al mismo tiempo que se retira el tratamiento insulínico. En la experiencia de estos autores, si se llega a una dosis de 0,8 mg/K/día y no se consigue la normoglucemia no es previsible alcanzarla con un mayor incremento de la medicación.

La terapia fracasó en 5 pacientes, 4 de los cuales asociaban algún tipo de alteración neurológica. Esto se debe a que la respuesta al tratamiento con sulfonilureas está parcialmente condicionada por el tipo de mutación^{22,23}. Las mutaciones más frecuentemente descritas responden, ya que con la droga se produce el cierre del canal. En otros casos de mutaciones menos frecuentes (Q52R, I296L, L164P) la alteración afecta a la cinética intrínseca del canal. Estudios in vitro en estas mutaciones, han demostrado que la dificultad para el cierre no revierte con tolbutamida y por lo tanto, la eficacia de la medicación oral es limitada. Son este subgrupo de mutaciones las que con mayor frecuencia causan alteraciones neurológicas asociadas a la diabetes neonatal. No obstante, existen excepciones y se han comunicado pacientes con síndrome DEND (mutación G53D ó V59M) en los que el tratamiento con glibenclamida si ha sido eficaz. En estos casos, además de corregir la hiperglucemia se consigue una clara mejoría

de los síntomas neurológicos, debido a la acción de la medicación en los canales de K^+ de las células musculares y neuronas^{22,24,25}.

Hay menor experiencia en el tratamiento con sulfonilureas en niños con diabetes por alteraciones en el SUR1. E. Corner y cols. (26) mostraron los resultados de la utilización de glibenclamida en 4 niños con diabetes permanente. Uno de ellos, portador de una mutación en ABCC8, tenía hipoglucemias frecuentes con una dosis baja de glibenclamida por lo que fue sustituida por tolbutamida que mostró ser eficaz. J.Stanik y cols en 4 pacientes, uno de ellos con mutación en ABCC8, tuvieron éxito en el tratamiento con glibenclamida.

2.2 Diabetes por alteraciones en 6q24

No hay un consenso respecto al tipo de tratamiento insulínico más adecuado en los casos de diagnóstico neonatal. Sí se conoce el beneficio de esta terapia puesto que conlleva un crecimiento de recuperación de estos pacientes. Las necesidades de insulina en estos pacientes se sitúan entorno a 0.7 UI/K/día. Con el arsenal terapéutico del que disponemos actualmente, sería recomendable el tratamiento con multidosis de análogos de insulina de acción rápida diluidos antes de las tomas o bien, el uso de una bomba de infusión continua de insulina.

En la fase de recidiva de la enfermedad en la edad adulta, como en general hay un componente de resistencia a la acción de la insulina, se recomienda iniciar el tratamiento con antidiabéticos orales. Se pasaría a insulino terapia ante el fallo de la terapia oral combinada.

2.3 Alteraciones en el gen de la insulina

El tratamiento de elección en estos pacientes es la insulina y se ha demostrado su eficacia. No hay un consenso respecto al tipo de tratamiento insulínico más adecuado en los casos de diagnóstico neonatal o durante los primeros meses de la vida, pero las pautas más recomendables son bomba de infusión continua de insulina, ó en multidosis con análogos de insulina rápida diluida preingesta.

Resumen

La diabetes que se diagnostica en los primeros 6 meses de la vida es en la mayoría de las ocasiones una diabetes monogénica, que causa una disfunción de la célula β y una secreción insuficiente de insulina. En el 80% de estos casos podemos identificar el gen cuya mutación origina la enfermedad. Los pacientes afectados de alteraciones en el 6q24 son recién nacidos muy distróficos que debutan con una diabetes en los primeros días de la vida, responden adecuadamente a la terapia con insulina y tienen una forma transitoria de diabetes neonatal, con recidiva posterior a lo largo de la vida.

Los pacientes que tienen una alteración en la función del canal de K^+ son niños que nacen con un peso en la parte baja de la normalidad, la diabetes se diagnostica en general a partir del primer mes de vida y presentan cetoacidosis en la tercera parte de los casos. Las diabetes secundarias a mutaciones en el gen de la insulina tienen una evolución permanente y los pacientes con alteraciones en el canal de K^+ pueden presentar una forma transitoria o permanente de diabetes. Todos ellos en el diagnóstico responden de forma adecuada al tratamiento insulínico pero cuando se demuestra una mutación en el canal de K^+ , el tratamiento de elección son sulfonilureas. En el 90% de las ocasiones en las que se ha utilizado sulfonilurea el cambio de terapia ha sido eficaz. En conjunto aquellos que asocian sintomatología neurológica son menos susceptibles a la terapia oral^{24,25}. Sin embargo se han descrito casos de notable mejoría no solo del control glucémico sino de las manifestaciones neurológicas en otros pacientes con mutaciones en Kir6.2^{24,27}. La respuesta a esta terapia depende del tipo concreto de mutación que padezcan.

Los pacientes que tienen una diabetes neonatal transitoria han de ser controlados posteriormente desde el punto de vista del metabolismo hidrocarbonato. Dado que su disfunción es genética en la mayoría de las ocasiones desarrollan de nuevo una diabetes en etapas posteriores.

Referencias

1. Stanik J, Gasperikova D, Paskova M, Barak L, Javorkova J, Jancova E, Ciljakova M, Hlava P, Michalek J, Flanagan SE, Pearson E, Hattersley AT, Ellard S, Klimes I. Prevalence of permanent neonatal diabetes in Slovakia and successful replacement of insulin with sulfonylurea therapy in *KCNJ11* and *ABCC8* mutation carriers. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:1276-82
2. Gloyn AL, Pearson ER, Antcliff JF, Proks P, Bruining GJ, Slingerland AS, Howard N, Srinivasan S, Silva JM, Molnes J, Edghill EL, Frayling TM, Temple IK, Mackay D, Shield JP, Sumnik Z, van Rhijn A, Wales JK, Clark P, Gorman S, Aisenberg J, Ellard S, Njolstad PR, Ashcroft FM, Hattersley AT. Activating mutations in the gene encoding the ATP-sensitive potassium-channel subunit Kir6.2 and permanent neonatal diabetes. *N Engl J Med* 2004;350:1838-49
3. Vaxillaire M, Populaire C, Busiah K, Cave H, Gloyn AL, Hattersley AT, Czernichow P, Froguel P, Polak M. Kir6.2 mutations are a common cause of permanent neonatal diabetes in a large cohort of French patients. *Diabetes* 2004; 53:2719-22
4. Gloyn AL, Reimann F, Girard C, Edghill EL, Proks P, Pearson ER, Temple IK, Mackay DJ, Shield JP, Freedenberg D, Noyes K, Ellard S, Ashcroft FM, Gribble FM, Hattersley AT. Relapsing diabetes can result from moderately activating mutations in *KCNJ11*. *Hum Mol Genet* 2005;14:925-34
5. Proks P, Arnold AL, Bruining J, Girard C, Flanagan SE, Larkin B, Colclough K, Hattersley AT, Ashcroft FM, Ellard S. A heterozygous activating mutation in the sulphonylurea receptor SUR1 (*ABCC8*) causes neonatal diabetes. *Hum Mol Genet* 2006;15:1793-800
6. Girard CA, Shimomura K, Proks P, Absalom N, Castano L, Perez de Nanclares G, Ashcroft FM. Functional analysis of six Kir6.2 (*KCNJ11*) mutations causing neonatal diabetes. *Pflugers Arch* 2006;453:323-32
7. Babenko AP, Polak M, Cave H, Busiah K, Czernichow P, Scharfmann R, Bryan J, Aguilar-Bryan L, Vaxillaire M, Froguel P. Activating mutations in the *ABCC8* gene in neonatal diabetes mellitus. *N Engl J Med* 2006; 355:456-66
8. Rica I, Luzuriaga C, Perez de Nanclares G, Estalella I, Aragonés A, Barrio R, Bilbao JR, Carles C, Fernandez C, Fernández JM, Fernandez-Rebollo E, Gastaldo E, Giral P, Gomez Vida JM, Gutierrez A, Lopez Siguero JP, Martinez-Aedo MJ, Munoz M, Prieto J, Rodrigo J, Vargas F, Castaño L. The majority of cases of neonatal diabetes in Spain can be explained by known genetic abnormalities. *Diabet Med* 2007;24: 707-13
9. Vaxillaire M, Dechaume A, Busiah K, Cave H, Pereira S, Scharfmann R, de Nanclares GP, Castano L, Froguel P, Polak M; SUR1-Neonatal Diabetes Study Group. New *ABCC8* mutations in relapsing neonatal diabetes and clinical features. *Diabetes* 2007;56:1737-41
10. Flanagan SE, Edghill EL, Gloyn AL, Ellard S, Hattersley AT. Mutations in *KCNJ11*, which encodes Kir6.2, are a common cause of diabetes diagnosed in the first 6 months of life, with the phenotype determined by genotype. *Diabetologia* 2006; 49: 1190-7
11. Ellard S, Flanagan S, Girard C, Patch A, Harries L, Parrish A, Hattersley A, Ashcroft. Permanent Neonatal Diabetes caused by dominant, recessive, or compound heterozygous SUR1 mutations with opposite functional effects. *Am J Hum Genet* 2007; 81: 375-382.
12. Edghill EL et al. Origin of de novo *KCNJ11* mutations and risk of neonatal diabetes for subsequent siblings. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 1773-1777.
13. Gloyn AL et al. Permanent neonatal diabetes due to paternal germline mosaicism for an activating mutation of the *KCNJ11* gene encoding the Kir6.2 subunit of the β -cell potassium adenosine triphosphate channel. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 3932-3935.
14. Temple IK, Gardner RJ, Mackay DJ, Barber JC, Robinson DO, Shield JP. Transient neonatal diabetes: widening the understanding of the etiopathogenesis of diabetes. *Diabetes*. 2000;49: 1359-66
15. Gardner RJ, Mungall AJ, Dunham I, Barber JCK, Shield JPH, Temple IK, Robinson DO. Localization of a gene for transient neonatal diabetes mellitus to an 18.72cR₃₀₀₀ (~5.4 Mb) interval on chromosome 6q. *J Med Genet* 1999; 36: 192-6
16. Das S, Lese CM, Song M, Jensen JL, Wells LA, Barnoski BL, Roseberry JA, Camacho JM, Ledbetter DH, Schnur RE. Partial paternal uniparental disomy of chromosome 6 in an infant with neonatal diabetes, macroglossia, and craniofacial abnormalities. *Am J Hum Genet* 2000;67: 1586-91
17. Metz C, Cavé H, Bertrand A, Polak M the NDM Frech Study Group. Neonatal diabetes mellitus: chromosomal analysis in transient and permanent cases. *J Pediatrics* 2002; 141 (4): 483-489.
18. Shield JP, Temple IK, Sabin M, Mackay D, Robinson DO, Betts PR, Carson DJ, Cave H, Chevenne D, Polak M. An assessment of pancreatic endocrine function and insulin sensitivity in patients with transient neonatal diabetes in remission. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2004; 89: F341-F3
19. Stoy J, Edghill EL, Flanagan SE, Ye H, Paz VP, Pluzhnikov A, Below JE, Hayes MG for the Neonatal Diabetes International Collaborative Group: Insulin gene mutations as a cause of permanent neonatal diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 15040-15044.

20. Polak M, Dechaume A, Cavé H, Nimri R, Crosnier H, Vaxillaire M. Heterozygous Missense Mutations in the Insulin gene are linked to Permanent Diabetes appearing in the Neonatal Period or in Early-Infancy: a report from the French ND Study Group. *Diabetes* 2008; 57: 1115-1119.
21. Colombo C, Prozio O, Liu M, Massa O, Vasta M, salardi S, Beccaria L, and the Early Onset Diabetes Study Group of the Italian Society of Pediatric Endocrinology and Diabetes (SIEDP). *J Clin Invest* 2008; 118 (6): 2148-2158.
22. Pearson P, Flechtner I, Njølstad P, Malecki M, Flanagan S, Larkin B, Ashcroft M, Polak M, Hattersley A, for the Neonatal Diabetes International Collaborative Group. Switching from insulin to oral sulfonylurea in patients with diabetes due to Kir6.2 mutations. *NEJM* 2006; 355 (5): 467-477.
23. Koster JC, Remedi MS, Dao C. ATP and sulfonylurea sensitivity of mutant ATP-sensitive K⁺ channels in neonatal diabetes: implications for pharmacogenomic therapy. *Diabetes* 2005; 54: 2645-54.
24. Koster JC, Canario F, Peruzzi C, Colombo C, Nichols CG and Barbetti F. The G53D mutation in Kir6.2 is associated with neonatal diabetes and motor dysfunction in adulthood that is improved with sulfonylurea therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(3): 1054-1061.
25. Tonini G, Bizzarri C, Bonfanti R, Vanelli M, Cerutti F, Faleschini F and Barbetti F. Sulfonylurea treatment outweighs insulin therapy in short-term metabolic control of patients with permanent neonatal diabetes due to activating mutations of the *KCNJ11* gene. *Diabetologia* 2006; 49: 2210-2213.
26. Codner E, Flanagan S, Ugarte F, García H, Vidal T, Ellard S, Hattersley A. Sulfonylurea treatment in young children with neonatal diabetes. *Diabetes Care* 2007; 30 (5): e28-e29.
27. Slingerland AS, Nuboer R, Haddes-Algra M, Hatterley AT, Bruining GJ. Improved motor development and good long-term glycaemic control with sulfonylurea treatment in patient with the syndrome of intermediate development delay, early-onset generalized epilepsy and neonatal diabetes associated with the V59M mutation in the *KCNJ11* gene. *Diabetologia* 2006; 49: 2559-2563.

IMPACTO DE LOS SISTEMAS DE MONITORIZACIÓN DE LA GLUCOSA EN EL TRATAMIENTO INTENSIVO CON INSULINA

Dra Marisa Torres Lacruz

Unidad de Diabetes. Sección de Endocrinología. Hospital Sant Joan de Déu. Barcelona

El DCCT (Diabetes Control and Complications Trial) demostró claramente la importancia del control glucémico en la prevención de las complicaciones microvasculares de la Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1) mediante el tratamiento intensivo con insulina.

Sin embargo, a pesar de la mayor utilización de pautas de tratamiento con múltiples dosis de insulina (MDI), de la terapia mediante infusión subcutánea continua de insulina (ISCI), y de la introducción de los análogos de insulina de acción rápida y de acción prolongada, el tratamiento intensivo de la DM1 no ha logrado alcanzar en muchos de los paciente de todos los grupos de edad el objetivo de HbA_{1c} recomendado por el DCCT hace 15 años.

El autocontrol de la glucemia capilar permite al paciente con diabetes ajustar la dosis de insulina y es necesario para lograr un control glucémico y de HbA_{1c} adecuados. Sin embargo, pocos pacientes controlan diariamente sus glucemias postingesta y durante la noche, y como consecuencia de ello son muy frecuentes tanto las hiperglucemias postprandiales como las hipoglucemias nocturnas asintomáticas incluso en pacientes bien controlados y que miden sus niveles de glucemia capilar varias veces al día.

Por otra parte el control de la glucemia capilar no permite detectar las fluctuaciones de la glucemia durante el día. La variabilidad glucémica parece desempeñar un papel importante en la aparición de las complicaciones crónicas de la diabetes incluso en pacientes con niveles aceptables de HbA_{1c}.

Algunos estudios demuestran que una mayor variabilidad glucémica se acompaña de un incremento en la producción de factores de relacionados con el estrés oxidativo como las interleukinas o las prostaglandinas que contribuyen al daño celular y a la lesión endotelial.

Los primeros sistemas de monitorización (CGMS Gold® Medtronic Minimed, GlucoWatch® Biographer Animas) introducidos a finales de los años 90 permitían el análisis retrospectivo de las glucemias de un corto periodo de tiempo. Posteriormente los nuevos sistemas de monitorización (CGM) a tiempo real (RT) han supuesto una mejora en precisión, funcionalidad y tolerancia de su uso por parte del paciente. Los CGM-RT permiten un ajuste más dinámico del tratamiento y son una de los componentes fundamentales para el desarrollo de los sistemas de infusión de asa cerrada (*closed-loop insulin infusion devices*).

Los sensores de glucosa determinan el nivel de glucosa a nivel del líquido intersticial basándose en la reacción química de un enzima, la glucosa oxidasa. La glucosa difunde desde la sangre capilar hasta el espacio intersticial. Existe un retraso fisiológico entre el nivel de glucosa capilar e intersticial que puede oscilar entre 5 y 15 minutos dependiendo de la rapidez con que oscilen los niveles de glucosa. Este dato es importante para la interpretación de los datos de monitor.

En la actualidad existen varios sistemas de monitorización de la glucosa intersticial a tiempo real: Guardian RealTime® de Medtronic, Freestyle Navigator® de Abbot Diabetes Care, Dex-

Com Seven® de Animas, todos ellos precisan ser calibrados durante su uso con la introducción de glucemias capilares, determinan el nivel de glucosa intersticial cada 1-5 minutos, tienen sistemas de alarmas que pueden ser ajustados para cada paciente, y su duración oscila entre 3 y 7 días dependiendo del dispositivo. Todos ellos disponen de un software específico que permite analizar las gráficas de tendencia y los perfiles glucémicos de forma retrospectiva.

En la actualidad sólo Guardian RT de Medtronic y el DexCom STS se halla aprobado para ser utilizado en menores de 18 años por la FDA.

En Europa se ha utilizado el sistema GlucoDay® de Menarini que determina los niveles de glucosa mediante un sistema de microdiálisis a través de la piel de la pared abdominal. El sistema es menos adaptable a la vida normal y su utilización se ha ido restringiendo a pacientes hospitalizados.

Varios trabajos publicados sobre el impacto de la monitorización en el control de la diabetes comprenden periodos de duración cortos y no son aleatorizados. La mayor parte de ellos sugieren una mejora del control metabólico aunque su beneficio a largo plazo sobre la disminución de los niveles de HbA_{1c} y la reducción del número de hipoglucemias no queda demostrado.

Los estudios clínicos aleatorizados sobre CGM-RT son de gran importancia para demostrar en qué aspectos ésta tecnología debe mejorar.

Hay pocos estudios que se hayan efectuado en población pediátrica, la mayoría se realizan sobre población adulta y algunos incluyen también adolescentes y niños a partir de los 8 años.

Dos de dichos estudios aleatorizados, controlados, de grupos paralelos y multicéntricos se han publicado en el año 2008 en el *New England Journal of Medicine* y en *Diabetes Technology & Therapeutics* y han sido realizados auspiciados por la JDRF (The Juvenile Diabetes Research Foundation Continuous Glucosa Monitoring Study Group).

Ambos trabajos observan que el beneficio asociado a la monitorización continua de la glucosa se halla relacionado con la edad. Así existe una mejoría significativa ($p < 0,001$) en el nivel de HbA_{1c} en el grupo de pacientes mayores de 25 años durante el periodo de estudio de 6 meses comparándolo con un grupo control que sólo realizaba el control mediante glucemias capilares. En el grupo de menor edad (8 a 14 años) se observa también una disminución no significativa del nivel de HbA_{1c} respecto al grupo control (disminución del 0,37% vs 0,22%) sin un aumento de los episodios de hipoglucemia. El grupo de 15 a 24 años es el que presenta una disminución menos significativa del nivel de HbA_{1c} respecto al grupo de pacientes no monitorizados siendo de 0,2% en ambos grupos al final del estudio. Los resultados pueden estar relacionados con la mayor utilización del sensor en el grupo de mayor edad a lo largo de las 26 semanas de estudio.

Una observación a realizar sobre las conclusiones obtenidas en los estudios aleatorizados sería si éstos resultados pueden ser generalizados a grupos de población con DM1 poco motivados y con peor control inicial. Además es necesario trabajar en un futuro para identificar que factores influyen en la menor efectividad del sistema obtenida en población pediátrica.

Los niños, principalmente los de menor edad, presentan una mayor tendencia a presentar hipoglucemias. La utilización de sistemas de monitorización continua ayudan a establecer objetivos glucémicos realista que mejoren el nivel de HbA_{1c} sin incrementar el riesgo de hipoglucemias valorando no sólo la frecuencia e intensidad sino también la duración de las mismas.

La implantación de un sistema de monitorización continua de glucosa en un paciente con DM1 implica que dicho paciente y/o familia (en caso de niños) deben recibir una formación adecuada para su utilización, con pautas de actuación escritas para el ajuste del tratamiento (dosis de insulina, raciones de carbohidratos) en situación de hiperglucemias / hipoglucemias durante el periodo de monitorización.

Los sistemas de monitorización pueden ser utilizados tanto en pacientes con MDI subcutánea como en aquellos que reciben tratamiento mediante un sistema de infusión subcutánea continua de insulina (ISCI). En este último caso existe en la actualidad una bomba de insulina que lleva integrado el sistema de monitorización a tiempo real (Paradigm Real-Time® 722 o 522 de Medtronic).

¿Quién puede beneficiarse de los sistemas de monitorización de glucosa a tiempo real?

Selección de pacientes:

- Pacientes con DM1 que no consiguen obtener un buen control metabólico tanto en términos de HbA_{1c} como de variabilidad glucémica a pesar de monitorizar la glucemia capilar varias veces al día.
- Pacientes con hipoglucemias frecuentes, mayor riesgo de hipoglucemia o sospecha de hipoglucemias inadvertidas.
- Pacientes que precisen ajuste del tratamiento o cambio del mismo.
- Mujeres con diabetes gestantes o que se hallen planificando una gestación
- Pacientes con gastroparesia en los que el conocimiento de cómo se modifica su nivel de glucosa con el enlentecimiento de la absorción de nutrientes puede suponer una mejora importante en su control y calidad de vida.
- Los niños y adolescentes con DM1 son también una población que claramente pueden beneficiarse de las ventajas de las nuevas tecnologías. En este sentido tanto el Diabetes Research in children Network (DirecNet) Study Group como la JDRF (The Juvenile Diabetes Research Foundation Continuous Glucosa Monitoring Study Group) han elaborado algoritmos de actuación que a modo de guía pueden ser utilizados para obtener una mayor seguridad e información en la población pediátrica. Los protocolos han sido objeto de publicaciones recientes.

¿De qué manera puede ser utilizada la información de los sistemas de monitorización a tiempo real?

Es importante que tanto los pacientes como los médicos, educadores en diabetes e investigadores conozcan cómo utilizar la información que suministra el CGM-RT y que a la vez se tengan expectativas realistas sobre su aplicabilidad.

Los datos de los monitores continuos de glucosa a tiempo real pueden ser utilizados de tres maneras:

- Utilización de la información de manera **retrospectiva**: la introducción de datos (comidas, insulina, otros eventos...) en el dispositivo durante la monitorización puede ayudar a identificar los patrones glucémicos que necesiten ajuste de tratamiento una vez se descargue la información a través del software.
- Utilización de los **datos actuales**: la programación de alarmas para niveles altos y bajos de glucosa facilita el ajuste dinámico del tratamiento.
- Utilización de la información de **forma prospectiva**: algunos dispositivos de CGM-RT disponen de flechas que señalan la tendencia de oscilación de la glucemia, la correcta interpretación permite al paciente tomar medidas correctoras antes de que se produzca una hipoglucemia o hiperglucemia importantes. La interpretación de los datos y la actuación ante los mismos precisa del diseño de algoritmos de actuación bien especificados para obtener el máximo de rentabilidad al sistema.

Otro aspecto que deberá ser valorado es el del coste-beneficio obtenido, la proyección de futuro y la posibilidad de sistemas de financiación o reembolso a los pacientes.

Conclusión

La introducción de los sensores para la monitorización continua de la glucosa supone una herramienta muy útil para lograr disminuir los niveles de HbA_{1c} de forma más segura y pueden ser utilizados tanto en niños como en adultos.

La educación sanitaria del paciente y su grado de motivación son fundamentales para obtener buenos resultados.

Los sistemas actuales de monitorización de la glucosa ayudan a identificar episodios de hipoglucemia que pasarían desapercibidos y permiten conocer en todo momento los niveles de glucosa y las tendencias de oscilación de la glucemia. Todo ello da información al paciente y/o familia para poder actuar previniendo situaciones de descompensación en hipo e hiperglucemia con ayuda de algoritmos de actuación.

Al igual que con los sistemas ciegos (GCMS Gold®) los nuevos dispositivos permiten también evaluar de forma retrospectiva los patrones glucémicos del paciente en relación con una pauta de tratamiento y dieta facilitando el ajuste de dosis de forma más segura.

Se necesitan más estudios aleatorizados realizados en población pediátrica que permitan valorar su incidencia real en el control glucémico de estos grupos de edad.

Referencias

1. The Juvenil Diabetes Research Foundation Continuous Glucosa Monitoring Study Group. Continuous Glucosa Monitoring and Intensive Treatment of Type 1 Diabetes. *N Engl J Med* 2008; 359: 1-13
2. DRF CGM Study Group. JDRF Randomized Clinical Trial to Assess the Efficacy of Real-Time Continuous Glucose Monitoring in the Management of Type 1 Diabetes: Research Design and Methods. *Diabetes Technol Ther* 2008; 1: 310 – 321
3. Diabetes Research in Children Network (DirecNet) Study Group. Prolonged use of continuous glucose monitor in children with diabetes on continuous subcutaneous insulin infusion or intensive multiple-daily injection therapy. *Pediatric Diabetes* 2008; 10: 1-6
4. Diabetes Research in Children Network (DirecNet) Study Group. Use of the DirecNet Applied Treatment Algorithm (DATA) for diabetes management with real-time continuous glucose monitor (the FreeStyle Navigator). *Pediatric Diabetes* 2008; 9: 142-147
5. Wilson D. Impact of Real-Time Continuous Glucose Monitoring on children and their families. *J Diabetes Sci Technol* 2007; 1(1): 142-145
6. Klonoff DC. A Review of Continuous Glucose Monitoring Technology. *Diabetes Technol Ther* 2005; 7: 770 – 775
7. Bayley TS, Zisser HC, Garg SK. Reduction in haemoglobin A1c with real-time continuous glucose monitoring results from 12-week observational study. *Diabetes Technol Ther* 2007;9: 203-210
8. Wilson D, Block J. Real-Time Continuous Glucose Monitor Use and Patient Selection: What have we Learned and Where Are We Going?. *Diabetes Technol Ther* 2005; 7(5): 788-791

DIABETES & TECHNOLOGY: TOWARD AN “ARTIFICIAL PANCREAS”

Cesar C. Palerm, Ph.D.

for the Closed-Loop R&D Group Medtronic Diabetes

The purpose of this “executive summary” is to give a broad overview of the presentation, while providing references for those who would like to explore certain topics in more detail. To begin, the term “artificial pancreas” is used in quotes, as though this has become the common term used to describe a system that delivers insulin automatically in response to glucose levels, it is not technically correct, as the pancreas does a lot more than just secrete insulin. In a fashion the term “artificial pancreatic β -cell” is more appropriate, but if such systems eventually incorporate other hormones such as glucagon maybe “artificial pancreatic islet” or “artificial endocrine pancreas” would be better terms. In any case, we can use the engineering term “closed-loop system” (CL system) as well.

Prior to the discovery of insulin, a diagnosis of type 1 diabetes mellitus (T1DM) was a death sentence, accompanied by a treatment of carbohydrate restriction and a slow death. The isolation of insulin by Banting and Best in 1921 changed everything (for the history of their work, see Bliss (2007)).

Although people with T1DM could now live for years after the onset of the disease, it became clear that just providing insulin was not the complete solution. The relationship between high glucose levels and the development of diabetic complications was firmly established in the early 1990's (Skyler, 1996). As a consequence, targets have been established for glycated hemoglobin (A_{1c}) levels, with the latest goal (6.5% or lower) being almost in the normal range (American College of Endocrinology, 2002). Certainly special considerations in the pediatric cohort result in less ambitious targets depending on age (American Diabetes Association, 2008).

Besides hyperglycemia *per se*, as quantified by A_{1c} levels, there is evidence emerging that glycemic variability could also be a detrimental factor (Giannini *et al.*, 2008; Hirsch and Brownlee, 2005; Monnier and Colette, 2008; Piconi *et al.*, 2006). Therefore not only would A_{1c} guide therapy, but also glycemic variability. In any case, and in particular in the context of developing a CL system, it is useful to consider what the glucose profiles of normal glucose tolerant (NGT) individuals are like over a 24-hour period. To this end, a study was performed with a standardized meal schedule, as well as insulin sensitivity determinations using an IVGTT (Steil *et al.*, 2004a). Based on this study the postprandial response observed in NGT individuals rarely exceeds 150 mg/dL, with basal levels around 90-100 mg/dL.

The technologies available for the management of diabetes have improved drastically over time. Before the first chemical urine test was developed in 1841 the only way to test for glucose was by tasting the urine or seeing if it attracted insects. It was not until 1964 that the first blood glucose (fingerstick) test was developed; the DextroStix was based on colorimetry, meaning that glucose concentration was indicated by change of color. In 1970 the Ames reflectance meter was introduced, which made this process more precise by measuring the color change of the DextroStix. This device was meant for use in the physician's office, and patients continued to rely on urine testing on a day-to-day basis.

The first meter meant for home use was introduced in 1977, the Accu-Check, which used the Chemstrip bG, also based on colorimetry. The first biosensor based on electrochemistry was not introduced until 1986, well after home blood glucose monitoring started making inroads in the early 1980s. Although these glucose meters were not very accurate, their use allowed

significant improvements in glycemic control, with a clear correlation of more frequent measurements with lower A_{1c} (Peterson *et al.*, 1986).

The idea of frequency trumping accuracy has come to the fore with the availability of continuous glucose monitors (CGM). The frequency of measurements now translates to an ability to distinguish patterns and trends. The initial devices (the first one introduced in 1999) were meant for physician use as a tool to retrospectively analyze glycemic control. Such use is still quite common and useful in research and clinical practice, such as its use in optimizing basal insulin infusion rates (Zisser *et al.*, 2007).

The first device that displayed glucose values to the patient in real-time was introduced in 2005 (the Guardian RT), and currently three companies offer such devices in the US (Medtronic, Abbott Diabetes Care, and Dexcom). Although there were early studies showing the benefit of real-time CGM (see *e.g.*, Garg *et al.* (2006)), there has been a lot of resistance based on a fear that patients would over-react to sensor values, or would take these at face value instead of confirming with a fingerstick glucose measurement.

Insulin delivery technology has also advanced significantly, from injections based on a rigid schedule, to insulin infusion pumps. Insulin itself has evolved, first with better production methods, and more recently with the introduction of insulin analogs, which provide options of both rapid-acting and basal absorption profiles. Continuous subcutaneous insulin infusion (CSII) pumps provide many benefits, including in the pediatric population (Tamborlane *et al.*, 2006).

Even with all this technology, patients are still involved in a daily, and complex, balancing act. Four factors affect glucose levels, and all must be considered by the patient: diet, insulin, exercise, and stress. The tools available are certainly useful, but not sufficient. There are several studies published that have focused on the use of such technologies in the pediatric population. Tsalikian *et al.* (2005) look at the relationship between exercise and nocturnal hypoglycemia, finding a clear relationship between the two. Certainly the use of alarms in CGM systems should help in this respect, but patients do not always respond to such alarms (Buckingham *et al.*, 2005). Missed meal boluses are another impediment to good glycemic control in pediatric subjects (Burdick *et al.*, 2004).

Most telling is the recently published paper by The Juvenile Diabetes Research Foundation Continuous Glucose Monitoring Study Group (2008). They have clearly shown an improvement in A_{1c} with the use of real-time CGM, but only in the cohort aged 25 years and older. The two pediatric cohorts (8-14 and 15-24 years old) did not seem to benefit from real-time CGM. What is clear from the published results is that these two cohorts did not use the sensors as much as the adult cohort did. In the presentation at the EASD meeting in Rome a few weeks ago, the investigators noted that when only those subjects who used the sensor six or more days per week were included in the analysis, all three cohorts showed improvement in A_{1c} . What is then clear is that in order to obtain the full benefits of such technologies they must be used consistently.

Ideally the patient should be removed from the day-to-day process of managing their glucose levels. Taking the patient "out-of-the-loop" is certainly not a new idea; the first such device was the Biostator (Albisser *et al.*, 1974), which was certainly not portable, and it required IV access for blood sampling, as well as insulin and dextrose infusions. Blood samples were taken every couple of minutes and the blood discarded, therefore extended use of the device was not possible.

More recently, the focus has been to develop such a system using CSII pumps and subcutaneous sensors. A good introduction to the topic, with non-engineers in mind, is that by Bequette (2005). Another recent review of work in this area is that by Hovorka (2006).

The development path chosen at Medtronic Diabetes has been to emulate, as closely as possible, the physiologic insulin delivery as done by the pancreatic β -cells. Details of the modeling of the β -cell, including validation using hyperglycemic clamp studies, can be found in (Steil *et al.*, 2003) and (Steil *et al.*, 2004b). The resulting algorithm is known as external Physiologic Insulin Delivery (ePID), with “external” referring to the subcutaneous site for the measurement of blood glucose and insulin delivery.

The ePID algorithm resulted in what is in essence a standard Proportional-Integral-Derivative (also PID) control algorithm. The general equation for the algorithm is:

$$u(t) = \underbrace{K_P e(t)}_{\text{Proportional}} + \underbrace{\frac{K_P}{\tau_I} \int_0^t e(\tau) d\tau}_{\text{Integral}} + \underbrace{K_P \tau_D \frac{de(t)}{dt}}_{\text{Derivative}}$$

where $u(t)$ is the manipulated variable used to regulate the system (*i.e.*, insulin delivery), and $e(t)$ is the error signal, which is the difference between the setpoint (where we want the controlled variable to be at, *i.e.*, the glucose target) and the controlled variable (*i.e.*, glucose concentration). The tuning parameters are the controller gain (K_P), the integral time constant (τ_I), and the derivative time constant (τ_D). The proportional term adjusts the manipulated variable in proportion to the error at the given time. The integral term adjusts the manipulated variable in proportion to the accumulated error (the integral) as averaged over the time period specified by τ_I ; thus, as τ_I is increased the less effect this component will have on the overall control action. Lastly, the derivative term adjusts the manipulated variable in proportion to the derivative of the error; the multiplication by τ_D can be viewed as a projection of the error into the future if the current rate of change persists, therefore having a larger τ_D results in a stronger change to the control action. The tuning of these parameters is discussed in (Steil *et al.*, 2006).

The first *in vivo* trial of the ePID algorithm was done on diabetic dogs (Pantoleon *et al.*, 2006) and had three objectives: 1) to evaluate the ability of the ePID algorithm to control blood glucose, compensating as well for the delay in subcutaneous insulin delivery (which is not present in the β -cell itself upon which the algorithm is modeled); 2) to determine the stability of the closed-loop system as the system gain is increased or decreased; and 3) to assess if the *in vivo* responses can be described using standard metabolic models.

Eight diabetic dogs were treated with continuous subcutaneous insulin infusion (CSII) therapy for at least one week before experiments in order to determine their total daily insulin requirement. This value was then used to determine the nominal controller gain. Each dog underwent, in random order, a set of three closed-loop experiments, each with a different controller gain set at the nominal value (K_{po}), half the nominal ($0.5 K_{po}$), or 50% larger ($1.5 K_{po}$). The overall system gain is the multiplication of the controller gain and the metabolic system gain (the insulin sensitivity), so this test also provides insight into what happens as the insulin sensitivity of the subject changes without changing the controller gain.

This study was pivotal to show that the ePID algorithm could be used *in vivo* to regulate blood glucose even when delivering insulin subcutaneously, and that it is stable for a wide range of gains.

The first human clinical study of the ePID system was done in collaboration with Dr. Mohammed F. Saad at UCLA (Steil *et al.*, 2006). Ten subjects with type 1 diabetes participated in the trial. Prior to the closed-loop experiment subjects wore a continuous glucose monitoring system (CGMS) during a 3-day outpatient period, and kept a logbook with other information related to meals, physical activity, instances of hypoglycemia, etc. This period served to provide data of the

subjects glycemic control during CSII open-loop (standard) therapy, as well as to determine their daily insulin requirements.

For the closed-loop experiment subjects were admitted into the general clinical research center. Subjects were served meals at 8:00, 13:00, 18:00, and 22:00 (snack), with carbohydrate content based on a weight maintenance diet. Analysis of the closed-loop data focused on lunch, dinner, and snack on day 2 and breakfast on day 3, as well as the overnight period.

Glycemic control was not as good as that seen in the non-diabetic population consuming a similar diet (Steil *et al.*, 2004a). Although it is not realistic to expect a closed-loop system that uses subcutaneous glucose measurement and insulin delivery to achieve the same level of regulation, it does provide a realistic ideal goal to compare against. In this case a major factor in the difference in glycemic control is due to the target being set at 120 mg/dL for the closed-loop test, while the level seen in non-diabetic individuals is around 100 mg/dL (Steil *et al.*, 2004a).

What was clear is that there was an improvement over standard CSII therapy, particularly as it relates to a reduced variance when in closed-loop. During the closed-loop period blood glucose was in a range of 70-180 mg/dL 75% of the time, while it was in this range only 63% of the time during open-loop (matched 24 hour period). While the incidence of hypoglycemia in this study was similar for the open- and closed-loop periods, the algorithm always responded by suspending insulin infusion. The sensors also detected hypoglycemia without significant delay, as expected from sensor studies (Steil *et al.*, 2005).

Overall, this study demonstrated that closed-loop glucose control is possible using a subcutaneous glucose sensor and subcutaneous insulin delivery. The study also provided a wealth of insight into the behavior of the algorithm that have been incorporated into later studies.

This first study of the ePID algorithm in human subjects resulted in postprandial hyperglycemic excursions, with late postprandial hypoglycemia being a common occurrence (Steil *et al.*, 2006). These are issues that could be exacerbated in adolescents due to their higher insulin requirements stemming from the insulin resistance of puberty. The second human-subject study sought to look into the feasibility of using the ePID algorithm in adolescents, and also introduced some changes based on the results of the previous study (Weinzimer *et al.*, 2008). This study also investigated the effect of adding a small pre-meal insulin dose, hypothesizing that this would improve glycemic control in the postprandial periods; this is in essence a feedforward control action (i.e., anticipating the meal ahead of changes in the blood glucose concentration). For this purpose subjects were divided into two groups, one receiving the preprandial bolus (HCL, hybrid closed-loop) and the other with no feedforward action (FCL, fully closed-loop).

Nighttime glucose levels were nearly identical between the two groups. The mean daytime and peak postprandial glucose levels were lower in the HCL group, as would be expected when using feedforward control action. While postprandial glucose levels often exceeded 180 mg/dL in the FCL group, they rarely went above 300 mg/dL, and levels returned to target by the next meal.

Compared with the open-loop control period, performance of both closed-loop groups was significantly better. During the open-loop period 58% of glucose measurements were in the 70–180 mg/dL range, 33% were above 180 mg/dL, and 9% were below 70 mg/dL. For the closed-loop period 85% of glucose measurements were in the 70–180 mg/dL range, 12% above 180 mg/dL, and only 3% were below 70 mg/dL. There were no significant differences in the time spent in each range between the FCL and HCL groups.

This study showed that the ePID system is feasible in adolescents with type 1 diabetes. It is important to note that the improvements were shown in subjects who were already in good control, with average A_{1c} of only 7.1%.

A common issue with closed-loop control of insulin delivery (with any control algorithm) is the overdelivery of insulin during the meal disturbance period. One way to limit the amount of insulin delivered is to use an estimate of plasma insulin, and use this to mimic the β -cell response to plasma insulin levels (Argoud *et al.*, 1987). In a way, this is also similar to the insulin-on-board concept used in insulin pumps. In the case of the ePID algorithm, this can be accomplished as

$$u(t) = P(t) + I(t) + D(t) - \gamma I_p$$

where $P(t)$, $I(t)$, and $D(t)$ are the proportional, integral and derivative components, respectively, of the ePID algorithm, and $\gamma I_p(t)$ is the insulin feedback component. The insulin feedback term ($\gamma I_p(t)$) is calculated based on the pharmacokinetics of subcutaneously infused insulin.

The latest human-subject clinical study incorporates such a modification to the ePID algorithm. This study was carried out at City of Hope with Dr. Fouad Kandeel, and just concluded recently. The meal feedforward strategy was also used, with the difference that in this study the preprandial insulin bolus is 2 U, irrespective of the carbohydrate content of the meal. Such a strategy would significantly simplify the use of such a closed-loop system, as the patient would be required only to indicate that they were about to consume a meal, but would not need to count carbohydrates. The manuscript detailing the results of this study is currently in preparation.

During the closed-loop portion of these studies the subjects were mostly sedentary, and they were given meals on a regular schedule. This leaves the open question of how performance of the ePID system will change when meals are more irregular and when exercise is incorporated. These are questions that will only be answered with further human clinical studies, as even canine experiments are very hard to perform under such conditions.

There are other challenges remaining before a closed-loop system is available commercially. Sensors eventually fail and need to be replaced, and in a closed-loop system there is the need to detect when this happens without user intervention, and revert automatically to an open-loop strategy. A similar situation arises with the insulin infusion, as site failure is a possibility that would also affect system performance. The delays in sensor glucose due to interstitial transport dynamics, as well as subcutaneous insulin delivery, also limit the performance of any closed-loop system. Nonetheless, the research carried out to date shows that a closed-loop system for ambulatory use by T1DM patient is not a matter of *if* it will become available, but rather when it will become available.

References

1. Albisser AM, Leibel BS, Ewart TG, Davidovac Z, Botz CK, Zingg W: An artificial endocrine pancreas. *Diabetes* 23 (5):389–396, 1974
2. American College of Endocrinology: American College of Endocrinology consensus statement on guidelines for glycemic control. *Endocr Pract* 8 (Suppl 1):5–11, 2002
3. American Diabetes Association: Standard of medical care in diabetes — 2008. *Diabetes Care* 31 Suppl 1:S12–S54, 2008. doi:10.2337/dc08-S012
4. Argoud GM, Schade DS, Eaton RP: Insulin suppresses its own secretion in vivo. *Diabetes* 36 (8):959–962, 1987
5. Bequette BW: A critical assessment of algorithms and challenges in the development of a closed-loop artificial pancreas. *Diabetes*

- Technol Ther 7 (1):28–47, 2005
6. Bliss M: The discovery of insulin. Chicago: University of Chicago Press, 25th Anniversary ed., 2007
 7. Buckingham B, Block J, Burdick J, Kalajian A, Kollman C, Choy M, Wilson DM, Chase P, in Children Network DR: Response to nocturnal alarms using a real-time glucose sensor. *Diabetes Technol Ther* 7 (3):440–447, 2005
 8. Burdick J, Chase HP, Slover RH, Knievel K, Scrimgeour L, Maniatis AK, Klingensmith GJ: Missed insulin meal boluses and elevated hemoglobin A1c levels in children receiving insulin pump therapy. *Pediatrics* 113 (3Pt 1):e221–e224, 2004. doi:10.1542/peds.113.3.e221
 9. Garg S, Zisser H, Schwartz S, Bailey T, Kaplan R, Ellis S, Jovanovic L: Improvement in glycemic excursions with a transcutaneous, real-time continuous glucose sensor: a randomized controlled trial. *Diabetes Care* 29 (1):44–50, 2006
 10. Giannini S, Benvenuti S, Luciani P, Manuelli C, Cellai I, Deledda C, Pezzatini A, Vannelli GB, Maneschi E, Rotella CM, Serio M, Peri A: Intermittent high glucose concentrations reduce neuronal precursor survival by altering the IGF system: the involvement of the neuroprotective factor Seladin-1. *J Endocrinol* 198:523–532, 2008. doi:10.1677/JOE-07-0613
 11. Hirsch IB, Brownlee M: Should minimal blood glucose variability become the gold standard of glycemic control? *J Diabetes Complications* 19 (3):178–181, 2005. doi:10.1016/j.jdiacomp.2004.10.001
 12. Hovorka R: Continuous glucose monitoring and closed-loop systems. *Diabet Med* 23 (1):1–12, 2006. doi:10.1111/j.1464-5491.2005.01672.x
 13. Monnier L, Colette C: Glycemic variability: should we and can we prevent it? *Diabetes Care* 31 Suppl 2:S150–S154, 2008. doi:10.2337/dc08-s241
 14. Panteleon AE, Loutseiko M, Steil GM, Rebrin K: Evaluation of the effect of gain on the meal response of an automated closed-loop insulin delivery system. *Diabetes* 55 (7):1995–2000, 2006. doi:10.2337/db05-1346
 15. Peterson CM, Jovanovic L, Chanoch LH: Randomized trial of computer-assisted insulin delivery in patients with type I diabetes beginning pump therapy. *Am J Med* 81 (1):69–72, 1986. doi:10.1016/0002-9343(86)90184-1
 16. Piconi L, Quagliaro L, Assaloni R, Ros RD, Maier A, Zuodar G, Ceriello A: Constant and intermittent high glucose enhances endothelial cell apoptosis through mitochondrial superoxide overproduction. *Diabetes Metab Res Rev* 22 (3):198–203, 2006. doi:10.1002/dmrr.613
 17. Skyler JS: Diabetic complications. the importance of glucose control. *Endocrinol Metab Clin North Am* 25 (2):243–254, 1996
 18. Steil GM, Hwu C, Janowski R, Hariri F, Jinagouda S, Darwin C, Tadros S, Rebrin K, Saad MF: Evaluation of insulin sensitivity and beta-cell function indexes obtained from minimal model analysis of a meal tolerance test. *Diabetes* 53 (5):1201–1207, 2004a
 19. Steil GM, Panteleon AE, Rebrin K: Closed-loop insulin delivery-the path to physiological glucose control. *Adv Drug Deliv Rev* 56 (2):125–44, 2004b. doi:10.1016/j.addr.2003.08.011
 20. Steil GM, Rebrin K, Darwin C, Hariri F, Saad MF: Feasibility of automating insulin delivery for the treatment of type 1 diabetes. *Diabetes* 55 (12):3344–3350, 2006. doi:10.2337/db06-0419
 21. Steil GM, Rebrin K, Hariri F, Jinagouda S, Tadros S, Darwin C, Saad MF: Interstitial fluid glucose dynamics during insulin-induced hypoglycaemia. *Diabetologia* 48 (9):1833–1840, 2005. doi:10.1007/s00125-005-1852-x
 22. Steil GM, Rebrin K, Janowski R, Darwin C, Saad MF: Modeling β -cell insulin secretion - implications for closed-loop glucose homeostasis. *Diabetes Technol Ther* 5 (6):953–964, 2003. doi:10.1089/152091503322640999
 23. Tamborlane WV, Swan K, Sikes KA, Steffen AT, Weinzimer SA: The renaissance of insulin pump treatment in childhood type 1 diabetes. *Rev Endocr Metab Disord* 7 (3):205–213, 2006. doi:10.1007/s11154-006-9018-9
 24. The Juvenile Diabetes Research Foundation Continuous Glucose Monitoring Study Group: Continuous glucose monitoring and intensive treatment of type 1 diabetes. *N Engl J Med* 359 (14):1464–1476, 2008. doi:10.1056/NEJMoa0805017
 25. Tsalikian E, Mauras N, Beck RW, Tamborlane WV, Janz KF, Chase HP, Wysocki T, Weinzimer SA, Buckingham BA, Kollman C, Xing D, Ruedy KJ, Group DRICNDS: Impact of exercise on overnight glycemic control in children with type 1 diabetes mellitus. *J Pediatr* 147 (4):528–534, 2005
 26. Weinzimer SA, Steil GM, Swan KL, Dziura J, Kurtz N, Tamborlane WV: Fully automated closed-loop insulin delivery vs. semi-automated hybrid control in pediatric patients with type 1 diabetes using an artificial pancreas. *Diabetes Care* 31 (5):934–939, 2008. doi:10.2337/dc07-1967
 27. Zisser HC, Bevier WC, Jovanovič L: Restoring euglycemia in the basal state using continuous glucose monitoring in subjects with type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Technol Ther* 9 (6):509–516, 2007. doi:10.1089/dia.2007.0220



Novo Nordisk Pharma, S.A.
Vía de los Poblados, 3
Parque Empresarial Cristalia
Edificio 6 - 3ª Planta
28033 Madrid



**SOCIEDAD ESPAÑOLA
DE ENDOCRINOLOGÍA
PEDIÁTRICA**
(Sección de la A.E.P.)

www.seep.es