



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA
ESPECIALIDAD EN BIOQUÍMICA CLÍNICA

**"EFECTO DEL TACROLIMUS EN EL METABOLISMO DE CARBOHIDRATOS
EN RECEPTORES HUMANOS SOMETIDOS A TRASPLANTE RENAL "**

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el diploma de la
Especialidad en Bioquímica Clínica

FACULTAD DE
QUIMICA

Presenta:

L.A.Q.B. Yadira del Rosario Calvillo Félix

Dirigido por:

Dr. Alfredo Chew Wong

SINODALES



Dr. Alfredo Chew Wong
Presidente

M. en C. Gustavo Pedraza Aboytes
Secretario

Esp. Bq. Cl. Ma. Elena Villagrán Herrera
Vocal

Dra. Victoria Valles Sánchez
Suplente

Dr. Victor Manuel Ortiz Arroyo
Suplente

M. en C. Gustavo Pedraza Aboytes
Director de la Facultad de Química

Firma

Firma

Firma

Firma

Firma

Dr. Sergio Quesada Aldana
Director de Investigación y Postgrado

No. Adq. 20 20

No. Titulo _____

Clas. C 17 461059

C 17 461059

50.2

RESUMEN

Los inhibidores de calcineurina (tacrolimus [TAC] y ciclosporina [CsA]) son tóxicos para los islotes pancreáticos, siendo la toxicidad de TAC a este nivel mayor. Con el uso de TAC se ha reportado una incidencia de diabetes mellitus (DM) que varía entre un 5% a 36%, esta variación es debido a la diversidad de los factores de riesgo para el desarrollo de diabetes que presentan las poblaciones estudiadas. Existe poca información acerca de las alteraciones en el metabolismo de carbohidratos que causan los inhibidores de calcineurina en pacientes de bajo riesgo para DM. Con objeto de comparar el efecto de TAC versus CsA en el metabolismo de carbohidratos mas secreción de insulina en receptores de trasplante renal (RTR), se realizó un estudio prospectivo, comparativo y transversal donde se incluyeron un total de 20 RTR en base a los siguientes criterios: creatinina sérica ≤ 1.8 mg/dl, tiempo de trasplante entre 1 a 3 años y haber firmado el escrito del consentimiento informado; se excluyeron pacientes con diagnóstico de DM, intolerantes a carbohidratos o con familiares directos con DM tipo II, RTR con segundo trasplante o que cursaran con alguna enfermedad infecciosa en el momento del estudio. Se formaron 2 grupos de estudio en base al esquema de inmunosupresión de mantenimiento empleado, grupo A: 10 pacientes que recibían TAC+MMF+PDN y grupo B: 10 pacientes que recibían CsA+MMF+PDN. Los pacientes fueron pareados por edad ± 4 años, género y fecha de trasplante. Se les midió peso, talla, índice cintura/cadera, índice masa corporal y composición corporal total (tanita); análisis de laboratorio: curva de tolerancia a la glucosa de 2 horas, insulina basal, 60 y 120 minutos, índice de resistencia a la insulina por HOMA, perfil de lípidos, creatinina sérica, niveles séricos de TAC o CsA. Se concluyó que la prevalencia de resistencia a la insulina en la población estudiada fue del 30%, porcentaje alto si tomamos en cuenta que son RTR jóvenes con bajo riesgo para el desarrollo de DM. La frecuencia de resistencia a la insulina en el grupo de A fue similiar a la observada en los pacientes del grupo B destacando como un efecto potencialmente tóxico de TAC puede ser limitado con una selección adecuada de los pacientes y manteniendo niveles séricos bajos de este inmunosupresor.

Palabras clave: trasplante renal, tacrolimus, ciclosporina, diabetes mellitus, resistencia a la insulina.

SUMMARY

Calcineurine inhibitors (tacrolimus [TAC] and cyclosporine [CsA]) are toxic to the pancreatic islets, being TAC toxicity at this level higher. An incidence of diabetes mellitus (DM) ranging from 5% to 36% has been reported with the use of TAC; this variation is due to the diversity of risk factors for diabetes development presented by the populations studied. There is little information about the alterations in carbohydrate metabolism of calcineurine inhibitors in patients with low risk to DM. In order to compare the effects of TAC vs. CsA in the carbohydrate metabolism of the calcineurine inhibitors plus insulin secretion in renal transplant recipients (RTR's), a prospective, comparative, cross-sectional study was made, including a total of 20 RTR's, based on the following criteria: serumal creatinine \leq 1.8 mg/dl, time from transplant, between 1 and 3 years, signature of informed consent. We excluded patients diagnosed with DM, intolerant to carbohydrates or having direct relatives with DM type II, RTR's with a second transplant or patients who had any infectious diseases at the moment of the study. Two study groups were formed based on the immunosuppression maintenance schemes used, group A: 10 patients receiving TAC+MMF+PDN, and group B: 10 patients receiving CsA+MMF+PDN. The patients were paired by age \pm 4 years, gender and date of transplant. We measured their weight, size, wrist/waste index, body mass index, and total body composition (Tanita); laboratory analyses: 2 hr. glucose tolerance curve, basal insulin, 60 and 120 minutes, insulin resistance index by HOMA, lipid profile, serumal creatinine, TAC or CsA serumal levels. It was concluded that the prevalence of insulin resistance in the population studied was of 30%, a high percentage in view that RTR's are young people with low risk to develop DM. The frequency of resistance to insulin on patients in group A was similar to that observed on patients in group B, which points out that a potentially toxic effect of TAC may be limited with the adequate choice of patients and by keeping low serum levels of this immunosuppressor.

Key words: renal transplant, tacrolimus, cyclosporine, diabetes mellitus, insulin resistance.

Dedicatorias.....

A Dios por todas tus oportunidades, ahora ya puedo decir prueba superada y a seguir adelante, solo tu sabes por lo que pasé te amo Negrito lindo y gracias por compartir este segundo escalón profesional con la gente que quiero y que esta conmigo, pero aún no concluyo...

A ti Papá por ser un gran hombre y por tu apoyo incondicional de realizar un paso mas en mi vida profesional, por enseñarme que la clave esta en el dictado del corazón, gracias a Dios que eres mi padre...

A ti Ángel, en donde quiera que estés porque fuiste parte fundamental de la decisión por salir adelante en mi nueva etapa, gracias por ser también como un padre para mí, aún vives en el corazón de quien te quiere..

AGRADECIMIENTOS

A mis padres queridos, por su apoyo incondicional, por demostrarles que vale la pena aferrarse a las metas hasta alcanzarlas; por su orientación y motivación para mi superación académica. Gracias Mamá por todas tus enseñanzas. A mis hermanos por contar con su apoyo y amistad en todo tipo de circunstancias; Amigo, Nena, Chimis. A Juan y Jacobo por ser parte de mi familia.

Al pequeño Gerardo Emiliano, por ser la luz y la alegría que nos llenó de felicidad, ojalá esto algún día te pueda servir de guía.

Al Dr. Alfredo Chew, por apoyarme y orientarme a las filas de la investigación, por su enseñanza, paciencia y conocimientos que enriquecieron este trabajo, por ayudarme a lograr una meta, gracias por su compañerismo y su amistad..

Al Dr. Jorge Valdivia y al Dr. Ricardo Choza por todo su apoyo sin su colaboración no hubiese concluido mi trabajo. Química Elba mil gracias por todo, que Dios la Bendiga.

A mis maestros por la paciencia de trasmitirme sus conocimientos Dr. Julio Granados gracias por todo su apoyo, y a Uds. Sinodales por su paciencia y amistad, Ma. Elena, Dra. Vicki Valles, Gustavo y Victor gracias por todo.

Dr. Rafael Urzúa, gracias a sus palabras logré dar un segundo paso en mi carrera profesional espero no concluir aquí, mil gracias por su apoyo padrino!; Dr. Hugo Durán, Ud. ha sido testigo de mis escalones profesionales y de lo que me ha ido costando, gracias por su apoyo por sus consejos y orientación, gracias por devolverme una bella sonrisa con dientes perfectos!

A la familia Larrauri Rivera, Sra. Vicos y Don Paco, no tengo palabras para agradecerles su apoyo y amistad gracias por abrirme las puertas de su casa, por sus consejos, su paciencia y orientación, por ser parte de mi familia los llevo en mi corazón, que Dios los bendiga siempre; Paco, Claus, Carlitos y Armando, por aceptarme, por su hospitalidad, por su amistad, los quiero mucho.

A la tía Cachis y al tío Alex, mil gracias por todo.

A mis cuates de allá de Aguas, a los de Quere y a los de siempre por su amistad y comprensión; Susi Mtz, Goga, Compadre, gracias por dejarme entrar en su círculo. P. Beto gracias por su amistad.

P. Efraín gracias por ser guía también, gracias amigo; Benjamín y Flaviano por su amistad tan valiosa, por su hospitalidad, por la alegría contagiada, por los momentos tristes compartidos, por considerarme de su familia y por ser parte de la mía.

A mis colegas y compañeros, por esas tardes que compartimos, por los días de nervios, por las risas compartidas, por sus experiencias, por su amistad.
Esme, Delia, Lili, Frank y Susi, los extraño dinamitas!

A mis pacientes que sin ellos no se hubiese realizado este trabajo, por compartirme parte de su experiencia, y por brindarme su amistad,
gracias Oziel.

Y a toda la gente que de alguna manera me permitió compartir nuevas experiencias, aprender de ellos y que a su vez me brindaron su amistad durante este tiempo.

INDICE

Resumen	i
Summary	ii
Dedicatorias	iii
Agradecimientos	iv
Índice	vi
Índice de tablas	viii
Índice de figuras	ix
Índice de cuadros	x
Índice de gráficas	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
Objetivo General	5
Objetivos particulares	6
II. REVISIÓN DE LITERATURA	7
a) Transplante renal y componentes de la Respuesta inmune	7
• Linfocitos T	7
• Linfocitos B	11
• Superfamilia de las inmunoglobulinas	11
• Antígenos HLA	11
• Moléculas accesorias CD4/CD8	14
• Alorecocimiento	14
• Señales de activación intracelular	14
• Citocinas	17
• Anticuerpos monoclonales anti CD3 OKT3	20
• Anticuerpos anti IL-2R	21
• Anticuerpos monoclonales anti-moléculas de adhesión	21
• Anticuerpos policlonales	21
b) Inmunosupresores	22
• Corticoides	26
• Tacrolimus	28
• Mecanismo de acción de tacrolimus	29
• Ciclosporina	31
• Mecanismo de acción de ciclosporina	31
• Micofenolato mofetil	33
c) Diabetes mellitus y tacrolimus	34
• Frecuencia	34

• Clasificación y mecanismo de daño	35
• Prevención y complicaciones	36
• Incidencia de diabetes mellitus post-trasplante	38
• Resistencia a la insulina e índice de HOMA	40
III. METODOLOGIA	41
Pacientes	41
Mediciones y análisis	42
Análisis estadístico	43
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44
V. CONCLUSIONES	50
LITERATURA CITADA	51
APENDICE	53
ANEXO 1.	54

INDICE DE TABLAS

Tabla	Página
Tabla I. Citocinas de la inmunidad innata	19
Tabla II. Citocinas de la inmunidad específica	20
Tabla III. Clasificación de las drogas inmunosupresoras según su lugar de acción	24
Tabla IV. Clasificación de los anticuerpos y monoclonales según su lugar de acción	25

INDICE DE FIGURAS

Figura	página
1. Células procedentes de médula ósea	8
2. Selección positiva y negativa de linfocitos T en el timo	9
3. Las subpoblaciones de linfocitos T segregan diferentes citocinas	10
4. Esquema de la célula con las moléculas HLA y organización genómica de la región de CMH que las codifica	12
5. Estructura molecular HLA clase I	13
6. Estructura de una molécula HLA clase II	14
7. Secuencia de las señales de activación intracelular	15
8. Representación esquemática de las 2 señales necesarias para la activación de linfocitos T	16
9. La actuación de la IL-2 sobre su receptor en el linfocito T inicia la 3ª señal de activación	17
10. Mecanismo de acción de corticoides	27
11. Mecanismo de acción del tacrolimus	30
12. Mecanismo de acción de ciclosporina	32
13. Mecanismo de acción de micofenolato mofetil	33

INDICE DE CUADROS

Cuadro I. Promedio comparativo TAC-CsA en dosis de prednisona	44
Cuadro II. Promedio de resultados analizados en grupos TAC – CsA	45

INDICE DE GRAFICAS

I. análisis de CTGO en RTR con TAC versus CsA	46
II. índice de HOMA	47
III. niveles de insulina en RTR con TAC versus CsA	48

I. INTRODUCCIÓN

La insuficiencia renal (IR) es un problema nivel mundial cada vez mas frecuente. La IR es un proceso continuo que comienza cuando algunas nefronas (unidades funcionales del riñón encargadas de la filtración renal y por lo tanto de la producción de orina) pierden su función y finaliza cuando las nefronas restantes son incapaces de mantener la vida del paciente, siendo necesario el inicio de tratamiento sustitutivo (diálisis o trasplante). Aunque las dos terceras partes de las nefronas dejan de funcionar, pueden no producirse cambios significativos en el balance de agua, iones y otras sustancias, debido a las adaptaciones de las nefronas restantes. Asimismo, los cambios en la producción hormonal pueden pasar desapercibidos, por lo que el diagnóstico, a veces, amerita la realización de pruebas especializadas de medición de la función renal. Una vez que la función de los riñones ha caído por debajo del 10%, es necesario iniciar tratamiento sustitutivo de la función renal para evitar complicaciones graves que pueden producir la muerte del paciente. Existen tres modalidades de tratamiento sustitutivo: la hemodiálisis (proceso artificial, realizado por una máquina extracorpórea, durante el cual se eliminan las materias de desecho del metabolismo y las sustancias tóxicas, extraídas directamente de la sangre), la diálisis peritoneal (procedimiento intra corpóreo en donde la membrana de separación de las sustancias de desecho es el peritoneo) y el trasplante renal. Cada una de ellas es complementaria de las otras. Así, un paciente que espera un trasplante requerirá hemodiálisis o diálisis peritoneal hasta que se produzca una donación. La diálisis suple algunas funciones del riñón, más no todas, por ello es importante acceder a un programa de trasplante renal. El riñón trasplantado cumplirá a cabalidad sus funciones y el paciente se recuperará de la Insuficiencia Renal y de todos los síntomas que lo han acompañado durante su estancia en diálisis. Lamentablemente no todos los pacientes son candidatos para entrar a un programa de diálisis, pero esto no debe ser un limite para tener una muy adecuada calidad de vida en diálisis. La enfermedad renal en estado terminal es mortal, a menos que la persona reciba tratamiento con diálisis o trasplante renal,

aunque ambas terapias pueden tener riesgos y consecuencias graves. El resultado final varía y es único para cada persona. La IR se clasifica en aguda, subaguda y crónica, según la forma de aparición (días, semanas, meses o años) y sobretodo en la recuperación o no de la lesión. Mientras que la IR aguda es reversible en la mayoría de los casos, la forma subaguda lo es en menor frecuencia, y la Insuficiencia Renal Crónica (IRC) presenta un curso progresivo hacia la Insuficiencia Renal Crónica Terminal (IRCT).

La modulación de la respuesta inmune es el objetivo fundamental del tratamiento inmunosupresor, este hecho esta basado en dos importantes situaciones: 1) suprimir la respuesta del sistema inmune (SI) sin alterar la respuesta contra microorganismos y tumores, 2) revertir la respuesta inmunológica contra un órgano trasplantado (rechazo) una vez iniciada.

La tendencia actual a nivel, mundial es la utilización de protocolos de inmunosupresión de mantenimiento de baja toxicidad en trasplante renal, con objeto de disminuir los efectos secundarios de los diversos agentes dando una buena supervivencia al paciente receptor y por supuesto al injerto; la variación de fármacos inmunosupresores con acciones y efectos secundarios está permitiendo realizar múltiples protocolos para tener las drogas más efectivas y menos tóxicas.

Medicamentos que son importantes para inmunosupresión está el Sirólimus, Mofetil Micofenolato, Ciclosporina y Tacrolimus. Cabe señalar que no existe un inmunosupresor ideal para evitar rechazo. El tacrolimus ha sido un potente inmunosupresor y actualmente su empleo es común; su eficacia ha sido probada en cuanto a su poder inmunosupresivo, sin embargo existen efectos colaterales siendo un daño importante el inicio de Diabetes Mellitus Postrasplante, el cual varía de acuerdo a la dosis empleada, aunque ésta es considerada también como una enfermedad genética caracterizada por un grado variable de intolerancia a los carbohidratos. Otros daños asociados a tacrolimus, nefrotoxicidad, neurotoxicidad, hipertensión, trastornos en el metabolismo de glucosa, incremento en el riesgo de infecciones, diarrea y trastornos

gastrointestinales. No obstante el tratamiento con tacrolimus ha tenido un resultado bajo en la incidencia de hipercolesterolemia e hipertensión respecto a ciclosporina (1). Por eso es necesario e importante saber que tanto es lo que éste pueda influir en el metabolismo de carbohidratos, específicamente en los receptores de trasplante renal (RTR), que emplean el tacrolimus como parte de su esquema inmunosupresivo.

Los carbohidratos desempeñan funciones estructurales y metabólicas; para comprender su función fundamental en la economía del organismo de los mamíferos es esencial el conocimiento de la estructura y propiedades de importancia fisiológica. La glucosa es el carbohidrato más importante, pasa al torrente sanguíneo y también es convertida en el hígado, y a partir de ella pueden formarse los demás hidratos de carbono en el cuerpo, por ejemplo glucógeno para almacenaje, ribosa para ácidos nucleicos, galactosa en lactosa de la leche y en ciertos lípidos complejos y combinada con proteínas en las glucoproteínas y los proteoglicanos. Es el combustible principal de los mamíferos y en caso de los fetos es el combustible universal. Las enfermedades que se relacionan con carbohidratos incluyen diabetes, sacarina, galactosemia, enfermedades por almacenaje de glucógeno e intolerancia a la lactosa. El término carbohidrato surgió con la idea de que los compuestos de esta clase presentes de forma natural como el almidón, glucógeno, sacarosa y glucosa, eran hidratos del carbono y podían ser representados mediante la fórmula $C_n(H_2O)_n$. Mediante la gluconeogénesis el organismo puede sintetizar los hidratos de carbono necesarios a partir de otros materiales principalmente de algunos aminoácidos; sin embargo, las dietas pobres en hidratos de carbono normalmente producen desequilibrios metabólicos, por ejemplo, una dieta rica en grasas y pobre en hidratos de carbono provoca acidosis metabólica. Una dieta rica en proteínas y pobre en hidratos de carbono produce un desequilibrio proteico con una excreción urinaria elevada de nitrógeno (2).

La glucosa principalmente es obtenida de la dieta diaria. Cuando disminuyen las concentraciones sanguíneas de la glucosa, se mantiene la homeostasis mediante la liberación de glucosa desde el hígado y menor medida desde el riñón. Se sintetiza también glucosa a partir de precursores no hidrocarbonados mediante la gluconeogénesis. El exceso de hidratos de carbono conduce a la acumulación de triglicéridos en tejido adiposo. Para la síntesis de glucosa participan también otras vías como la glucogenólisis, glucogénesis y también el metabolismo de lípidos (2-3).

La insulina es la hormona reguladora que permitirá tener el equilibrio óptimo del nivel de glucosa en nuestro organismo, es la llave que abre la puerta del organismo al azúcar para que pueda entrar en las células y se convierta en energía. Actúa como un conmutador que cambia el metabolismo desde los lípidos hacia la utilización de la glucosa. Tiene sus orígenes en hormonas muy primitivas; se produce en las células β de los islotes de Langerhans; es una hormona polipeptídica. Los receptores donde actúa la insulina, están las células hepáticas y los adipocitos.

La resistencia a la insulina es la disminución de la respuesta de los tejidos blanco, sobre todo hígado y músculo, a los efectos biológicos de la insulina cuando la glucosa no llega a las células (4). En individuos predispuestos genéticamente, este defecto está presente desde una edad muy temprana, cuando todavía no hay ningún signo clínico de Diabetes tipo 2. El organismo compensa la resistencia a la insulina mediante la secreción crónica de grandes cantidades de insulina. Esta adaptación, si bien es útil para prevenir la hiperglucemia pero induce hiperinsulinemia crónica.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de tacrolimus en el metabolismo de carbohidratos en receptores de trasplante renal.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Comparar el efecto de tacrolimus versus ciclosporina en el metabolismo de carbohidratos y secreción de insulina en receptores de trasplante renal (RTR) en población mexicana.
- Evaluar el impacto de tacrolimus en el nivel de colesterol y triglicéridos en RTR.
- Evaluar la función del injerto y la frecuencia de rechazo agudo en RTR con tacrolimus versus RTR con ciclosporina.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

A) TRASPLANTE RENAL Y COMPONENTES DE LA RESPUESTA INMUNE

Las principales dificultades del trasplante de órganos derivan de la capacidad que tiene el organismo humano para diferenciar lo propio de lo extraño y actuar contra el órgano que recibe. Así, injertos entre individuos de la misma especie, genéticamente diferentes (aloinjertos) son rechazados, pero no lo son cuando proceden del mismo individuo (autoinjertos) o de individuos de la misma especie genéticamente iguales (isoinjertos). El sistema inmune (SI) se organiza en una estructura orgánica, celular y molecular. Está formado por los órganos linfoides primarios (médula ósea y timo) y secundarios (ganglios linfáticos y bazo). Los órganos linfoides primarios son esenciales en el desarrollo y maduración de los linfocitos y los secundarios en la continuidad del proceso de maduración de los linfocitos y en el desarrollo de la inmunidad (5-6).

Linfocitos T

La célula madre de la médula ósea por la acción de diversas citocinas genera diferentes líneas celulares. Las citocinas que intervienen de forma más decisiva en este proceso inicial de maduración son: factor de la célula madre, interleucina (IL)-3, factor estimulador de colonias de granulocitos-macrófagos, factor estimulador de colonias de granulocitos y eritropoyetina (fig. 1). Una de las líneas celulares van a formar los linfocitos B y T. Los linfocitos T posteriormente emigran al timo (fig.2) donde sufren su proceso de maduración adquieren su receptor y las moléculas CD3 y CD4/CD8 y sufren su proceso de selección antes de ser exportados a la periferia. Este proceso de selección es el responsable de la supervivencia de células que expresan un receptor que reconoce antígenos no propios asociados a moléculas propias del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) y que no se permita que células autorreactivas o potencialmente no eficaces maduren. Estas células se eliminan por un proceso activo de muerte

programada o apoptosis. Sólo los linfocitos T que han madurado pueden acceder a la circulación periférica para no retornar al timo. De ellos son del fenotipo CD4 y del CD8. Los linfocitos CD4 reconocen antígenos presentados por moléculas de clase II del CMH y los CD8 antígenos presentados por moléculas de clase I.

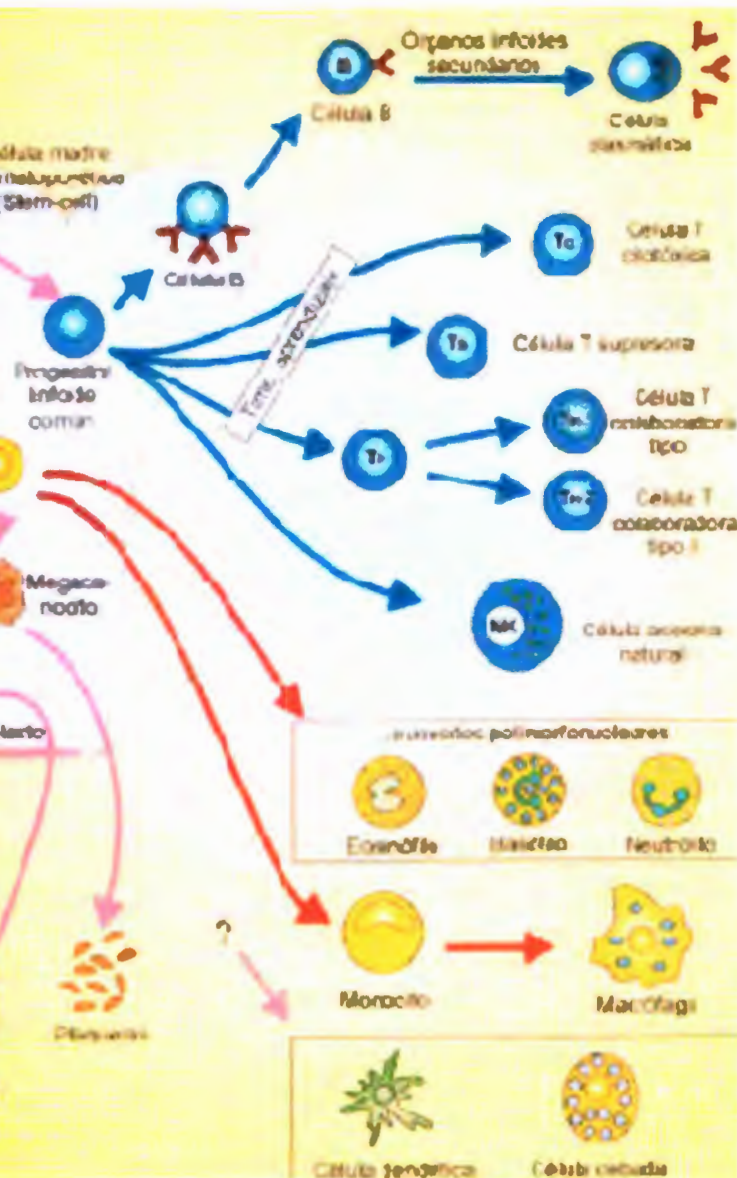


Fig. 1 Todas las células inmunes proceden de la célula madre pluripotencial de la médula ósea.

Las funciones de los linfocitos T son las siguientes:

- Activan a los linfocitos B y producen su expansión clonal para derivar a células de memoria o células plasmáticas productoras de anticuerpos.
- Reagrupan y activan a los monocitos-macrófagos.
- Llevan a cabo respuestas antivirales.
- Regulan la respuesta inmune.
- Para llevar a cabo las misiones anteriores producen mediadores químicos llamados citocinas.

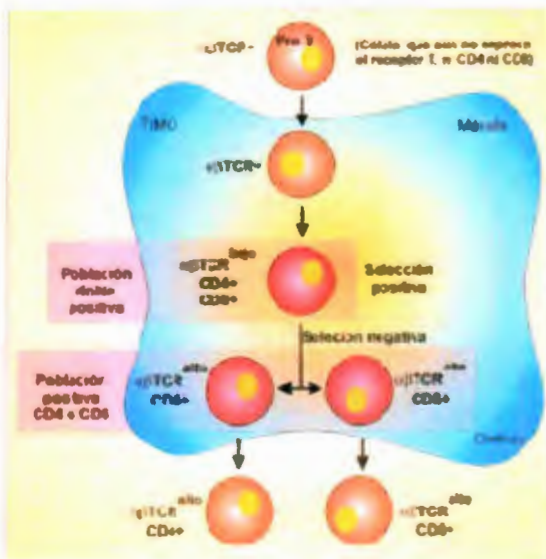


Fig. 2 Selección positiva y negativa de linfocitos T en el timo

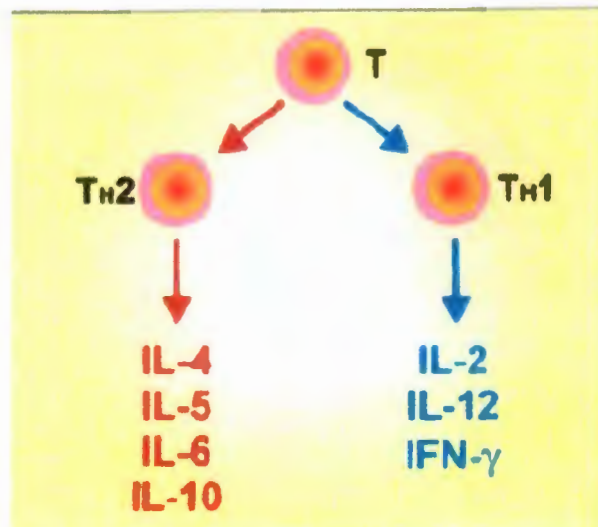


Fig. 3 Las subpoblaciones de linfocitos T segregan diferentes citocinas

Los linfocitos T CD4 producen y segregan citocinas; primariamente IL-2 y tras una prolongada estimulación muestran dos patrones diferentes: TH1 y TH2 (*Fig 3*). Los linfocitos TH1 segregan: IL-2, IL-12 e interferon γ y los TH2: IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10. La generación de linfocitos TH1 o TH2 está regulada por el equilibrio entre estos dos grupos de citocinas, entre las que la IL-2 e IL-12 tienen un papel preponderante. Los linfocitos TH1 son los responsables de la generación de células T citotóxicas, de la hipersensibilidad retardada y del rechazo del aloinjerto. Los linfocitos TH2 son los responsables de la activación de las células B aumentando la formación de anticuerpos y la diferenciación de precursores de eosinófilos (5-6)

Linfocitos B

Se localizan en la circulación, ganglios linfáticos y bazo. Se diferencian de los linfocitos T por proteínas de membrana. Las más importantes son: inmunoglobulinas, CD19, CD20, CD21, moléculas de clases I y II del CMH y los marcadores de activación: CD40 y CD23. Las inmunoglobulinas de superficie en los linfocitos B son el sinónimo del receptor de los linfocitos T.

Las funciones de los linfocitos B son:

- Producir anticuerpos frente a un antígeno (en la mayoría de los casos con la ayuda de los linfocitos T).
- Presentar antígenos a los linfocitos T y proporcionar señales para la activación de los linfocitos T.

Superfamilia de las inmunoglobulinas

Se incluyen: antígenos HLA, receptor de los linfocitos T, inmunoglobulinas, CD3, CD4/CD8, CD28, LFA-3 y un grupo de moléculas de adhesión.

Antígenos HLA

El CMH se sitúa en el brazo corto del cromosoma seis y está formado por un grupo de genes de herencia mendeliana que se extienden a lo largo de 4 millones de pares de bases. Estos genes (*Fig. 4*) codifican proteínas de membrana conocidas como antígenos leucocitarios humanos (HLA).

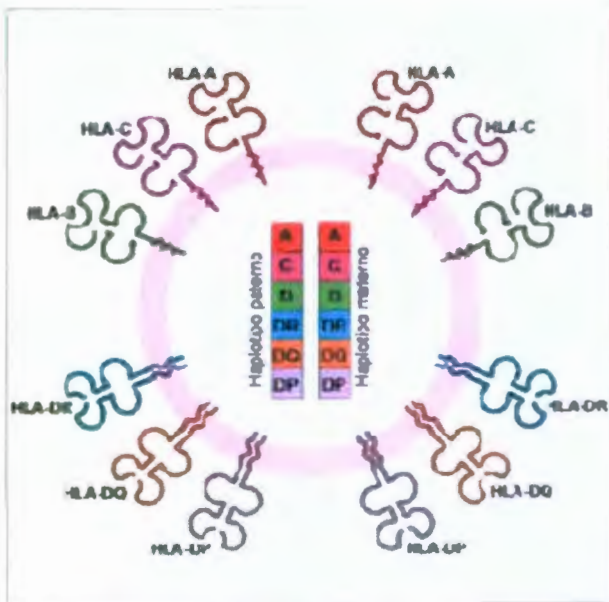


Fig. 4 Esquema de célula con las moléculas HLA y organización genómica de la región del CMH que las codifica.

Los antígenos HLA por su estructura, función y distribución celular se dividen en clases I y II. Los antígenos de clase I (*fig, 5*) se expresan en la mayoría de las células, son codificados por tres loci principales (A, B y C) y sirven de vehículos para presentar a los linfocitos T péptidos intracelulares procesados.

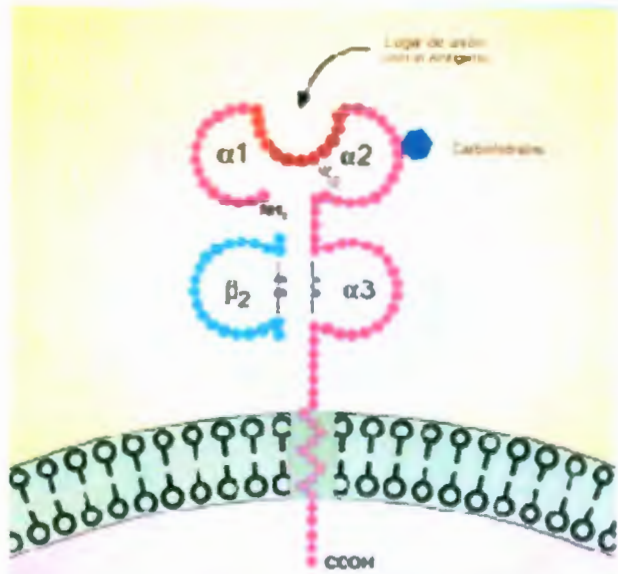


Fig. 5 Estructura de una molécula HLA clase I

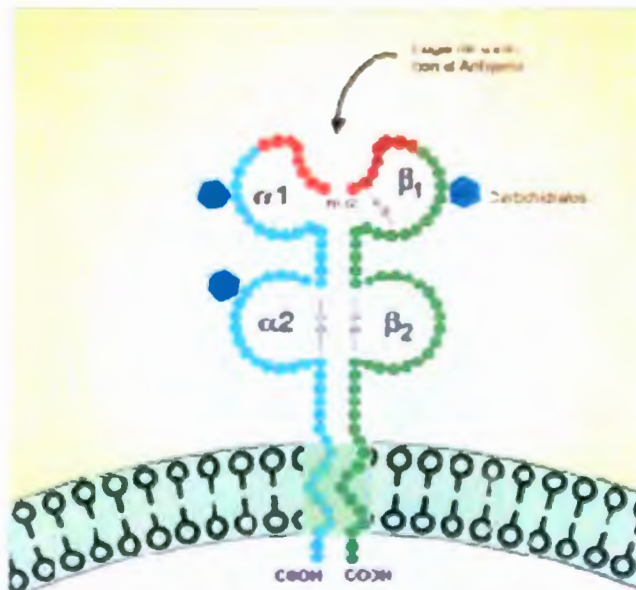


Fig. 6 Estructura de una molécula HLA de clase II

Los antígenos de clase II (*fig. 6*) son codificados por tres loci (DR, DP y DQ) y se localizan en las célula presentadora de antígenos y por estimulación con interferon- γ se expresan en las células endoteliales, epiteliales y linfocitos T.

Moléculas accesorias CD4/CD8

Son co-receptores expresados en la superficie de los linfocitos T que aumentan la interacción entre su receptor y el CMH de la célula presentadora de antígenos.

Alo-reconocimiento

No siempre que el linfocito T capta un antígeno extraño en su receptor se activa, sino que hay varias posibilidades de respuesta: apoptosis, anergia y activación parcial o total con expansión clonal. La activación total requiere los pasos siguientes:

- Ambiente local favorable (daño tisular local).
- Señal 1: Presentación del antígeno al receptor del linfocito T por la célula presentadora de antígenos.
- Señal 2: Coestimulación por la célula presentadora de antígenos.
- Señal 3: Secreción de citocinas por células T activadas.
- Síntesis de novo de nucleótidos.

Señales de activación intracelular

El linfocito T, como cualquier célula eucariota, tiene la capacidad de recibir estímulos, procesarlos y enviarlos al núcleo a través de cambios bioquímicos llamados señales de activación intracelular (*fig. 7*). Las proteínas celulares se activan por fosforilación y defosforilación realizadas por cinasas y fosfatasas, respectivamente.

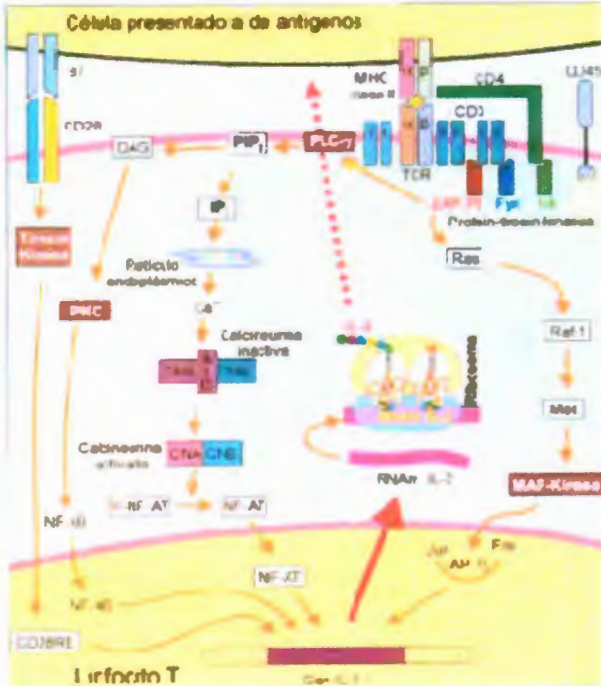


Fig. 7 Secuencia de las señales de activación intracelular

Para iniciar la señal de transducción las cinasas transfieren fósforo del ATP a los aminoácidos tirosina y serina-treonina. La fosforilación cumple dos funciones. Por un lado, cambia la configuración de las proteínas y activa funciones enzimáticas (generalmente proporcionando más actividad cinasa) que permiten que la señal se transmita como una onda de activación de proteínas. Por otro lado, la fosforilación, especialmente de tirosina, crea lugares de unión en las proteínas afectadas. Ello permite el reclutamiento de otras proteínas diana con las que nuevos elementos activados de la señal interactúan, de tal forma que la transmisión de la señal no es sólo una progresión lineal de la activación, sino que permite la participación de otros mensajeros intracelulares cuando son necesarios. En el caso concreto que nos ocupa se inician una serie de cambios en el entorno intracelular, cuya misión es permitir la translocación de determinados factores de transcripción al núcleo para activar genes de citocinas y que se inicie la activación y proliferación celular. Este proceso se lleva a cabo por los pasos siguientes:

Señal 1:

La unión del antígeno al receptor del linfocito T puede iniciar un proceso muy complejo que tiene como finalidad activar al linfocito T (*fig 8*). Se inicia con la defosforilación de las tirosin cinasas Ick (asociada a CD4) y Fyn (asociada a CD3).

Señal 2:

Las bases bioquímicas que median la señal dos no son bien conocidas, pero se cree que actúan a través de una tirosin cinasa que estimula sistemas que favorecen la activación del complejo receptor del linfocito T-CD3.

Señal 3:

Una vez que la citocina contacta con su receptor se activan varias señales de transducción (*fig 9*). En esta vía quedan muchas incógnitas por solucionar, pero su final es la activación de complejos enzimáticos del núcleo (actinas E/CDK2 y D/CDK4) que son esenciales para la progresión del ciclo de la célula de la fase G1 a S en la síntesis de DNA (5).

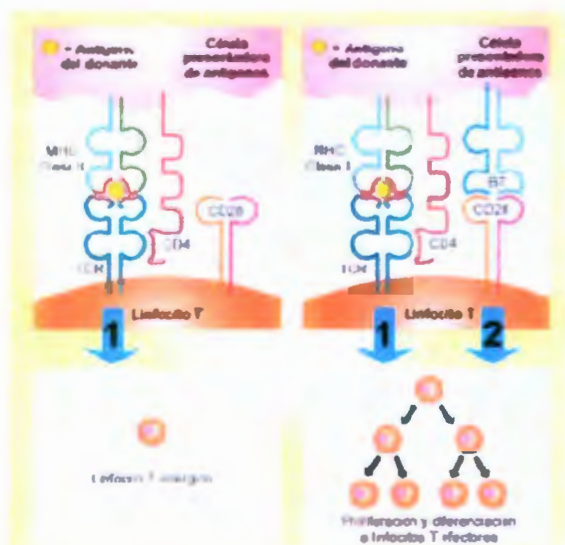


Fig. 8 Representación esquemática de

las dos señales necesarias para la activación del linfocito T. TCR receptor del linfocito T MHC complejo mayor de histocompatibilidad

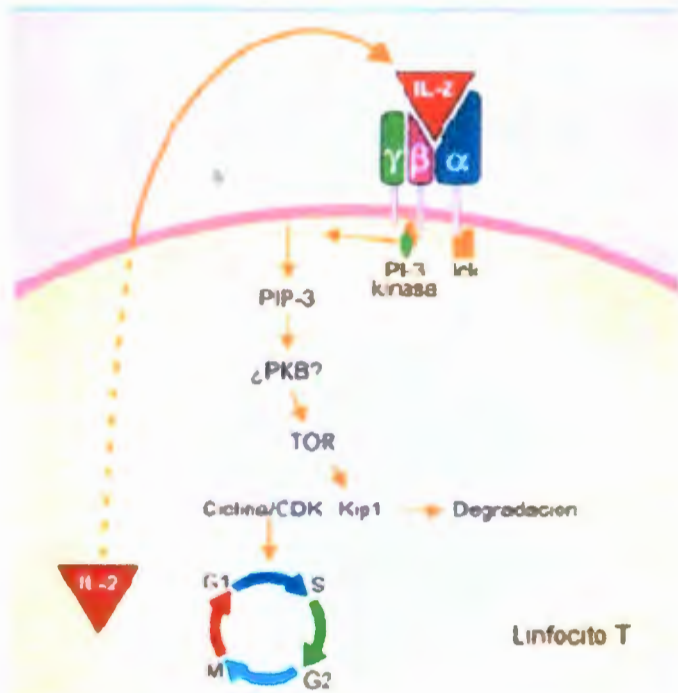


Fig. 9 La actuación de la IL-2

sobre su receptor en el linfocito T inicia la tercera señal de activación.

Citocinas

Son glicoproteínas de pequeño peso molecular (<80 kDa) que sirven de medio de comunicación entre las células. Tienen un papel fundamental en la organización y programación de la respuesta inmune. La acción más importante la llevan a cabo en la activación de los linfocitos T y B. Sus características más importantes son:

- Vida media corta.
- El gen que la procesa tiene alrededor de 4-5 kb de longitud y aproximadamente 4 exones.
- No se almacenan (excepto IL-16), sino que son sintetizadas de novo y segregadas por respuesta a estímulos concretos. Los linfocitos siempre segregan citocinas en respuesta a un antígeno específico.

- Actúan de forma autocrina estimulando a la misma célula que la produce o de forma paracrina estimulando a otras células de la vecindad. Rara vez tienen un efecto sistémico (endocrino).
- Su producción se controla modulando la transcripción de sus genes.
- Pueden actuar sinérgicamente con otras citocinas o como antagonistas.
- En tejidos no lesionados se producen a bajos niveles. Favorecen el crecimiento y maduración de las células y su efecto más característico lo llevan a cabo en la inflamación y en la respuesta del huésped a la lesión o a la infección.

Las tablas I y II resumen el origen, célula diana y efecto de las citocinas más importantes de la respuesta inmune.

Tabla I. Citocinas de la inmunidad innata:

Citosina	Origen	Célula Diana	Efecto
IL-1	Macrófagos	Endoteliales, musculares, hepáticas y del hipotálamo	Activa la inflamación, catabolismo y coestimulación
IL-6	Linfocitos T, macrófagos y células endoteliales	Linfocitos B y timocitos	Activa crecimiento, coestimulación e inflamación
IL-10	Linfocitos T y macrófagos	Macrófagos y linfocitos B	Activa linfocitos B e inhibe macrófagos.
IL-12	Macrófagos y células dendríticas.	Linfocitos T y células NK	Diferenciación de T CD4. Activa la síntesis de INF- γ . Citolítico.
IL-15	Macrófagos	Linfocitos T y células NK	Proliferación
INF-Tipo I	Macrófagos	Todas	Activación. Aumenta la expresión de antígenos del CMH de clase I. Antiviral
TNF	Macrófagos y linfocitos T.	Neutrófilos, células endoteliales y del hipotálamo.	Activación. Fiebre y catabolismo.
Quimioquinas	Macrófagos, linfocitos T, células endoteliales, plaquetas y fibroblastos.	Leucocitos.	Quimiotaxis y activación de la adhesión.

IL: interleucina, NK: asesina natural, NF: interferón, CMH: complejo mayor de histocompatibilidad, TNF: factor de necrosis tumoral.

Tabla II. Citocinas de la inmunidad específica

Citosina	Origen	Célula diana	Efecto
IL-2	Linfocitos T	Linfocitos T y B. Células NK	Estimulación de la inmunidad celular y humoral. Activación del crecimiento.
IL-4	Linfocitos T CD4	Linfocitos T y B y células endoteliales	Isotipo IgE. Activación del crecimiento.
IL-5	Linfocitos T.	Eosinófilos	Activación
TGF- β	Linfocitos T, macrófagos y otras	Linfocitos T	Inhibición
INF- γ	Linfocitos T y células NK	Especialmente macrófagos y células endoteliales, pero puede ser cualquier célula	Activación. Aumenta la expresión de antígenos del CMH de clases I y II.
Linfotoxina	Linfocitos T	Neutrófilos y células endoteliales	Activación

Anticuerpos monoclonales anti-CD3 (OKT3)

De origen murino dirigidos contra las moléculas CD3. Este anticuerpo es una inmunoglobulina IgG que se une a una de las subunidades CD3 produciendo su desactivación y la posterior endocitosis del receptor de los linfocitos T. Esto convierte al linfocito T en una célula inactiva que posteriormente es opsonizada por el sistema retículo-endotelial.

Anticuerpos monoclonales anti-IL-2R

Se dirigen contra la cadena α de IL-2R (receptor de IL-2) y actúan frente al linfocito T activado. Esto supone una capacidad inmunosupresora más selectiva que otros anticuerpos policlonales o monoclonales. En la práctica clínica se ha confirmado una frecuencia menor de infecciones oportunistas, de procesos linfoproliferativos y de linfomas en los pacientes tratados con anticuerpos anti-IL-2R que en aquellos tratados con anticuerpos policlonales y OKT3. Los anticuerpos monoclonales anti-IL-2R se clasifican en:

- Anticuerpos monoclonales murinos
- Anticuerpos monoclonales quiméricos

Anticuerpos monoclonales anti- moléculas de adhesión

El linfocito T activado segrega citocinas que favorecen la expresión de moléculas de adhesión en las células endoteliales del injerto. Ello facilita el contacto entre estas células y el linfocito T y la penetración de esta célula por el espacio intercelular hacia la pared de los vasos e intersticio. El bloqueo de las moléculas de adhesión por anticuerpos evita o disminuye esta secuencia de eventos y la experiencia acumulada señala que es posible alcanzar una tolerancia prolongada del injerto sin efectos indeseables.

Anticuerpos Policlonales

Los anticuerpos se fabrican y segregan por las células plasmáticas. La parte del antígeno con la que interactúa el anticuerpo se llama epítipo. La mayoría de los anticuerpos se originan como respuesta del organismo a antígenos de complejos macromoleculares con múltiples epítopos.

B) INMUNOSUPRESORES

Inmunosuprimir es reducir o evitar la respuesta inmune a través de agentes externos que actúan inhibiendo o bloqueando uno o varios pasos de la respuesta inmune. Para seguir un orden con fines didácticos los inmunosupresores se han clasificado en tres grupos: drogas inmunosupresoras (Tabla III), anticuerpos policlonales y monoclonales (Tabla IV) y nuevos métodos de inmunosupresión. Cada grupo se subdivide según el lugar de acción de los inmunosupresores. El grupo de los inmunosupresores está constituido por medicamentos indicados en la prevención o reversión del rechazo en los trasplantes de órganos; los medicamentos han sido divididos de acuerdo con su mecanismo de acción en cuanto a que pueden interferir en la acción del antígeno en el receptor del linfocito T, interferir en la transmisión del estímulo al núcleo e interferir con la división celular. Una terapia inmunosupresora se basa en la utilización combinada doble, triple o cuádruple de drogas como ciclosporina y tacrolimus (inhibidores de la calcineurina), rampamicina, azatioprina, mofetil micofenolato y prednisona con o sin anticuerpos policlonales (ALG, ATG) o monoclonales (OKT3) para la inducción, que son medicamentos de apoyo en la terapia inmunosupresiva o terapia adyuvante. En el trasplante renal, el tacrolimus puede tener las combinaciones doble como lo es con corticoides, triple, corticoides-azatioprina ó ácido micofenólico o sirólimus. Cuando iniciamos la inmunosupresión en un paciente trasplantado los objetivos son prevenir el rechazo agudo precoz, prevenir su aparición durante un largo periodo de tiempo y tratar el rechazo agudo y crónico; además es importante tener en cuenta la toxicidad de los fármacos inmunosupresores y sus efectos secundarios como infección y neoplasias.

Los diferentes blancos de la inmunosupresión, se dirigen a modificar la inmunogenicidad del injerto o de las células del receptor implicadas en el rechazo. El bloqueo de los linfocitos T presenta un ciclo celular en el que se distinguen fases como G0, G1, S, G2 y M. la fase G0 llamada también como quiescente representa a células metabólicamente activas cuya situación no es de

diferenciación; la fase G1, se caracteriza por una intensa actividad sintética de proteínas y precede a la fase S en la cual se duplica el material genético, la fase G2 precede a la mitosis en donde se dividen el núcleo y citoplasma celular.

Tabla III. Clasificación de las drogas inmunosupresoras según su principal lugar de acción

Lugar de acción	Tipo de acción	Droga
Procesamiento del antígeno en la célula presentadora-	Inhibidor	<ul style="list-style-type: none"> • deoxispergualina
Moléculas de adhesión	Inhibidor de la glicosidasa I	<ul style="list-style-type: none"> • castanospermina
Componentes moleculares de la activación intracelular	Inhibidores de la calcineurina	<ul style="list-style-type: none"> • ciclosporina • tacrolimus
	Inhibidor de la proteína TOR	<ul style="list-style-type: none"> • rapamicina
Factores de transcripción y proteínas asociadas	Inhibidores de NF- K β	<ul style="list-style-type: none"> • corticoides • deoxispergualina
	Estimulador de I κ B	<ul style="list-style-type: none"> • corticoides
Síntesis de nucleótidos	Inhibidores de la síntesis de purinas.	<ul style="list-style-type: none"> • Azatriopina • Mofetil • micofenolato • Mizoribina
	Inhibidores de la síntesis de pirimidinas.	<ul style="list-style-type: none"> • Brenquinar sódico • Leflunamida • Malononitramidias-

TOR: proteína diana de la rapamicina. NF- κ B: factor nuclear de la cadena κ en células B. I κ B: Factor regulador de NF- κ B.

Tabla IV. Clasificación de los anticuerpos policlonales y monoclonales según su lugar de acción.

Lugar de acción	Anticuerpos
Componentes moleculares de la señal 1	<p>a. policlonales:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Globulina antilinfocítica • Globulina antitimocítica <p>b. monoclonales murinos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Monoclonales anti-CD3 (OKT3) <p>c. monoclonales quiméricos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anti-CD4 <p>d. monoclonales humanizados:</p> <ul style="list-style-type: none"> • G-OKT3-5 • Anti- CD4
Moléculas de adhesión	Monoclonales murinos:
Receptor de interleucina 2	<p>a. monoclonales murinos:</p> <p>b. monoclonales quiméricos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Basiliximab (simulet) <p>c. monoclonales humanizados:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Daclizumab (Zenapax).

Corticoides

Los corticoides son lipofílicos y atraviesan la membrana de la célula para unirse a su receptor en el citoplasma. El complejo corticoide-receptor se une a una proteína de 90 kDa llamada HSP90 (heat shock pro-teín, proteína de estrés) que le sirve de transporte en su recorrido por el cito-plasma y que abandona antes de entrar al núcleo (*fig. 10*). El mecanismo de acción de los corticoides se puede resumir así:

El complejo corticoide-receptor estimula la síntesis de I κ B. Esta proteína, probablemente induce la disociación de NF- κ B (factor de transcripción) de los lugares κ B de los genes diana y favorece su desplazamiento al citoplasma.

El complejo corticoide-receptor se une a la subunidad p65 de NF- κ B y bloquea su efecto sobre los genes de citocinas inflamatorias. Además, los corticoides tienen un efecto inmunosupresor no específico a través de la redistribución de los linfocitos desde el árbol vascular al tejido linfático al inhibir la síntesis y secreción de factores quimiotácticos y de agentes vasodilatadores que aumentan la permeabilidad vascular.

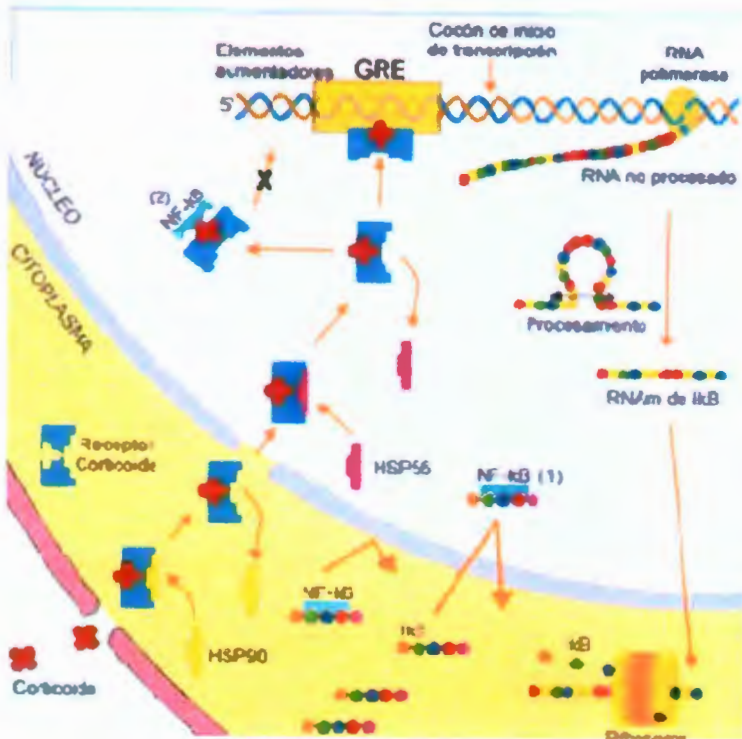


Fig. 10 Mecanismo de acción de los corticoides GRE elementos de respuestas a glucocorticoides.

Tacrolimus:

El tacrolimus es un fármaco inmunosupresor descubierto en 1984 por Fujisawa Pharmaceutical Co., aislado mediante la fermentación de filamentos bacterianos del *Streptomyces tsukubaensis*. Su mayor receptor intracelular o inmunofilina es la FKBP12, que al igual que la ciclofilina es una arotamasa que pertenece a la familia de las FKBP. Está formada por siete miembros: FKBP12, FKBP12,6, FKBP13, FKBP25, FKBP38, FKBP51 y FKBP52 (también conocida como HSP56, FKBP59, p59 o HSP59). Todos tienen capacidad de unión con tacrolimus, excepto FKBP38 que se le incluye en el grupo por la similitud de sus secuencias con el resto de los componentes de la familia FKBP. Estructuralmente, tacrolimus posee dos dominios, uno de unión a su receptor y otro efector que interactúa con la calcineurina. Se experimentó con modelos animales injertados, donde se demostró que hubo una mejor inmunosupresión que la ciclosporina (7). En la descripción farmacocinética del tacrolimus este está unido a proteínas principalmente albúminas y glucoproteínas alfa-1-ácido y presenta un alto grado de unión a los eritrocitos. Es importante saber que la distribución de tacrolimus entre sangre y plasma depende de varios factores como el hematocrito, temperatura de separación del plasma, concentración del fármaco y concentración de proteínas en el plasma (8).

El tacrolimus es metabolizado en gran parte en el hígado y en los microsomas del intestino delgado utilizando las enzimas del citocromo hepático P-450 3. El fármaco tiene un efecto inhibitorio sobre el citocromo P-450 1^a y 3 A; los metabolitos se excretan principalmente por la bilis, y menos del 1% aparece inalterado en la orina posterior a la administración de una dosis oral (7). El uso de tacrolimus se asocia con efectos secundarios tóxicos, principalmente con la nefrotoxicidad. Otros efectos secundarios adversos comprenden neurotoxicidad, hipertensión, insomnio y diabetes mellitus en un porcentaje menor al 5%.

Sin embargo, existe evidencia de que la terapia basada en tacrolimus se asocia con una menor incidencia de infecciones por citomegalovirus que la terapia inmunosupresora estándar basada en ciclosporina. Ocasionalmente, en orden de

frecuencia decreciente, y en casos muy aislados en un porcentaje menor al 1% se han reportado casos aislados como el síndrome urémico hemolítico y necrosis tubular renal, diarrea, elevación de las concentraciones de creatinina plasmática, y náuseas; trastornos sensoriales y del SNC como agitación, ansiedad y labilidad emocional. Eventos adversos psiquiátricos han sido registrados con una incidencia comparable a la observada con el tratamiento basado en ciclosporina. Se han informado alteraciones hematológicas y bioquímicas como acidosis, anemia y trastornos de coagulación. Así como aumento de las enzimas hepáticas. También se han registrado trastornos gastrointestinales vómitos con deshidratación, modificaciones del peso y del apetito, respiratorios, cutáneos como hirsutismo y prurito, y cardiovasculares (cambios electrocardiográficos y taquicardia). En casos aislados se han registrado alcalosis y reacciones alérgicas.

Mecanismo de acción de Tacrolimus:

1.- Inhibe la calcineurina (*Fig. 11*). Esto origina dos efectos:

- Bloqueo de la defosforilación de NF-AT y su translocación al núcleo.
- Bloqueo del factor de transcripción jun.

2.- Bloquea la translocación al núcleo de NF-kB.

3.- Inhibe factores de transcripción (NUR77 y MEF2) que intervienen en la apoptosis del linfocito T activado.

4.- Disminuye la actividad del AMPc dependiente de la protein cinasa A y del AMPc sensible a proteínas de unión (CREB). Estos efectos pueden ser los responsables de sus acciones diabetógena y nefrotóxica.

5.- Se une a la proteína de estrés HSP56 y aumenta la afinidad de los receptores de los corticoides.

6.- En sí inhibe señales calcio-dependientes

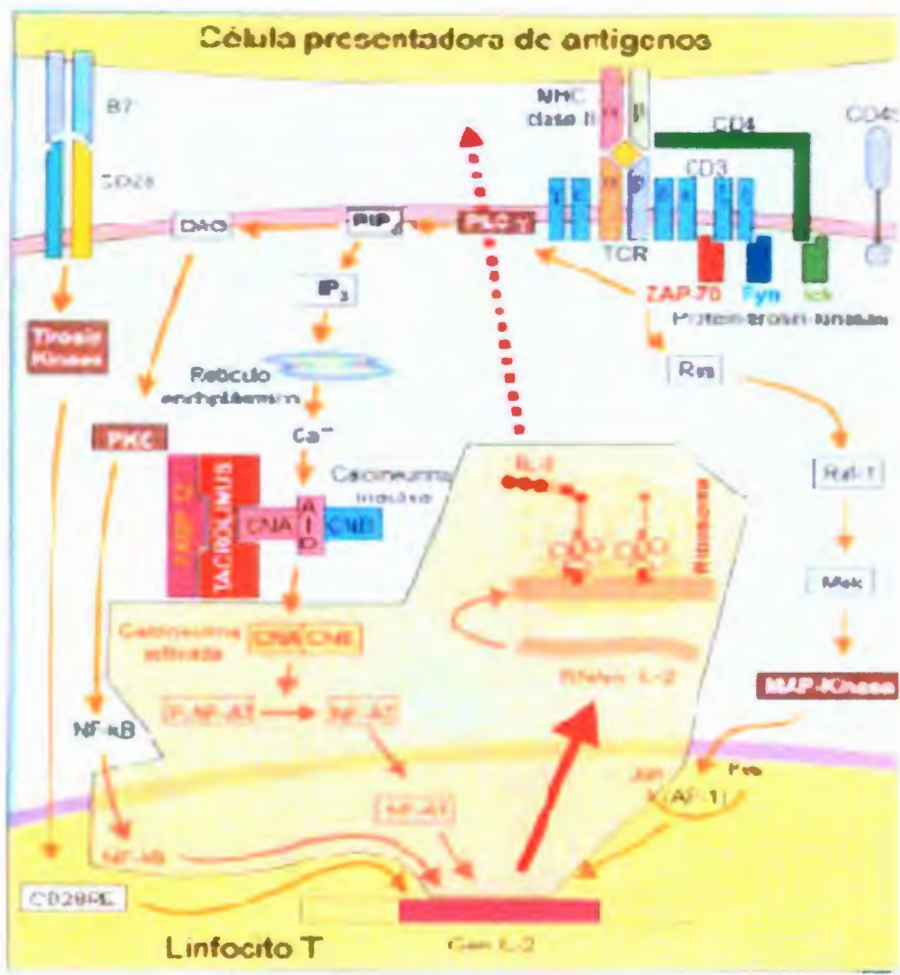


Fig. 11 Mecanismo de acción del tacrolimus. Las reacciones bajo el área sombreada quedan inhibidas.

Ciclosporina

Es un polipéptido cíclico de 11 aminoácidos extraído del hongo *Tolipocladium inflatum*. Actúa como un profármaco que se activa al unirse a una proteína o receptor intracelular llamado genéricamente inmunofilina.

Inhibe la proliferación del linfocito T al nivel de la fase de proliferación celular G0 a G1. El complejo droga-inmunofilina en el citoplasma de la célula se une a la calcineurina (*Fig. 12*) e inhibe su actividad fosfatasa. Esto produce la inhibición de las señales calcio-dependientes que intervienen en la activación del linfocito T. Su mayor receptor intracelular o inmunofilina es la ciclofilina que es una enzima llamada peptidil-prolil-isomerasa que cataliza la isomerización cis-trans de los puentes peptidil-prolil de las proteínas.

Mecanismo de acción de la ciclosporina:

1.- Inhibe la calcineurina:

- Ello impide la defosforilación de NF-AT (factor de transcripción) y su translocación al núcleo para iniciar la transcripción de citocinas, entre ellas la IL-2.
- Inhibe el factor de transcripción jun.

2.- Bloquea la translocación de NF-kB al núcleo. El NF-kB se encuentra en el citoplasma del linfocito T inactivo asociado a su inhibidor IκB. Cuando el linfocito T se activa el factor de transcripción NF-kB se fosforila y se disocia de su inhibidor permitiendo su translocación al núcleo para activar la transcripción de citocinas: IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, interferón- γ , factor de necrosis tumoral- α y factor estimulador de colonias de granulocitos-macrófagos. La ciclosporina bloquea la disociación NF-kB+IκB porque inhibe cinasas que activan la disociación.

3.- La ciclosporina aumenta la síntesis del factor de crecimiento transformante- β en linfocitos T y células endoteliales y renales.

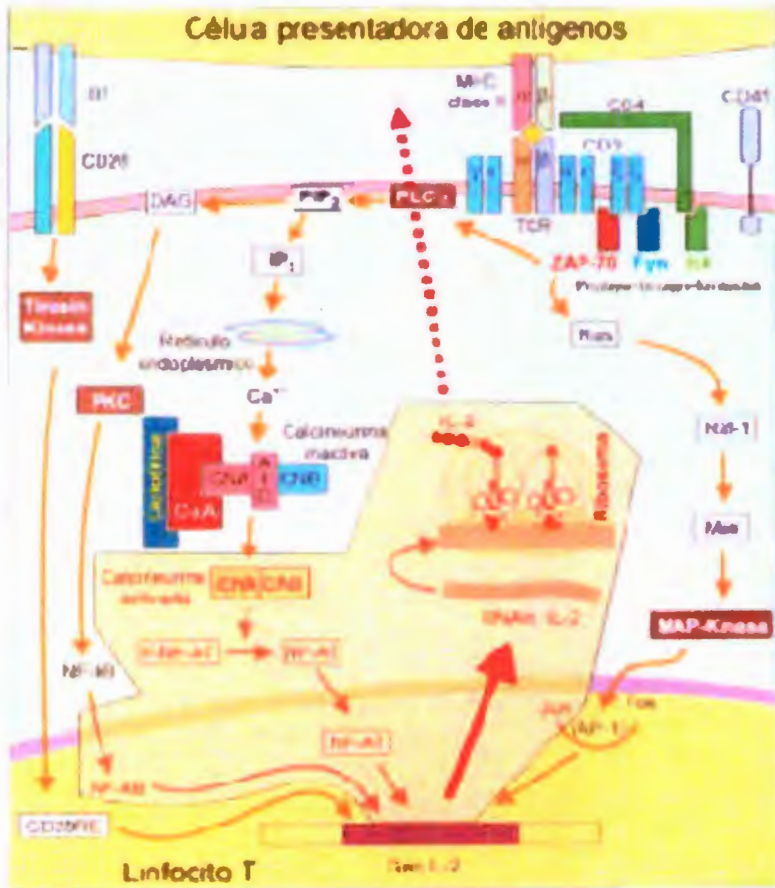


Fig. 12 Mecanismo de acción de la ciclosporina. Las reacciones bajo el área sombreada quedan inhibidas.

Micofenolato mofetil

Es un éster del ácido micofenólico obtenido de distintas especies del *penicillium*. Actúa como pro-fármaco hasta que se convierte en ácido micofenólico por un proceso de desesterificación llevado a cabo en el estómago, intestino delgado y probablemente en el hígado. Circula en el plasma unido a la albúmina y su biodisponibilidad es del 94%. El ácido micofenólico actúa inhibiendo la IMPDH en la vía de novo de síntesis de purinas (*Fig. 13*). La mayoría de las células utilizan las dos vías de síntesis de las purinas, pero los linfocitos y monocitos usan la vía de novo y ello da un carácter selectivo como inmunosupresor al micofenolato mofetil. En resumen, el micofenolato inhibe la proliferación y expansión clonal de los linfocitos T y B y monocitos. Además inhibe la expresión de moléculas de adhesión en los linfocitos afectando su unión a las células endoteliales.

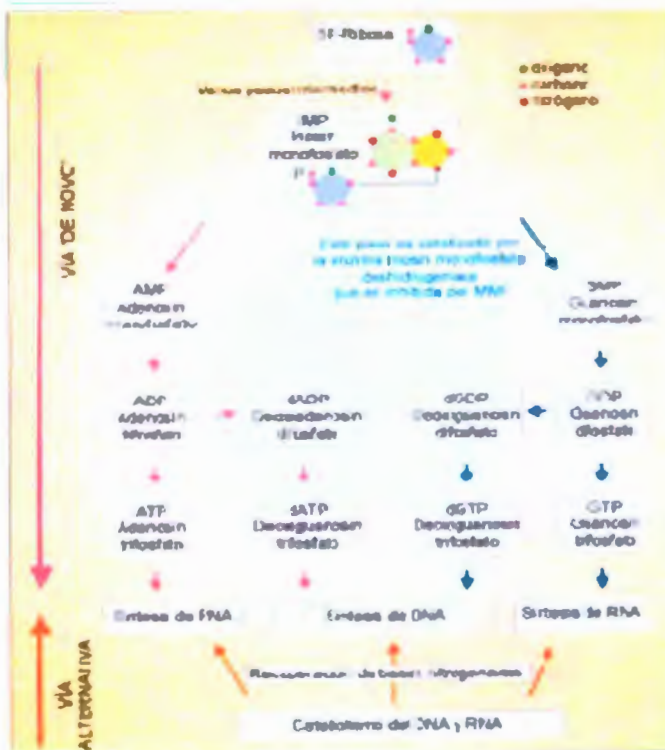


Fig. 13 Nivel en el que el mofetil micofenolato (MMF) bloquea la síntesis de novo de bases purínicas.

C) DIABETES MELLITUS Y TACROLIMUS:

La diabetes mellitus es una enfermedad ocasionada por alto contenido de glucosa en la sangre, el azúcar que circula en el torrente sanguíneo humano y que funciona como combustible para el cuerpo. La diabetes es un padecimiento conocido desde hace siglos sin embargo, a fin del milenio el conocimiento de su etiología, historia natural y epidemiología es aún incompleto. Actualmente es conocido de sobra que el riesgo genético es necesario pero no suficiente para desarrollar diabetes.

Frecuencia:

La frecuencia de diabetes ha aumentado dramáticamente en los últimos 40 años sin considerar que tanto en los países desarrollados como en los subdesarrollados existe un subregistro. Se sabe que existen dos categorías para su clasificación: etiología y tolerancia a la glucosa. La OMS y el Banco Mundial consideran a la diabetes como problema de salud pública. En México en 1922 el 11.8% de las defunciones correspondió a enfermedades crónico degenerativas, en 1992 llegaron al 55%. Es en la década de los años 70 cuando este incremento se hace mas notable. La mayor proporción de muertes por enfermedades crónico-degenerativas en 1998 se observó en el área metropolitana de la ciudad de México 63.3% seguida de la región norte del país 60.3% posteriormente la región centro 47% y la región sur 43.7%. entre las enfermedades crónico degenerativas la diabetes mellitus (DM) muestra el ascenso más importante en los últimos años; en 1922 se registraron 368 defunciones por esta causa, en 1992 se observaron mas de 29,000 fallecimientos y ocupó el 4º lugar de mortalidad. Los pacientes diabéticos en México viven 20 años en promedio con la enfermedad, este padecimiento se presenta entre los 35 y 40 años. Anualmente se registran 210 mil personas diabéticas y fallecen 30 mil aproximadamente. Por cada diabético que muere se detectan siete nuevos casos de enfermedad. La mortalidad por DM es mayor en los estados del norte que en los del sur, los del centro tienen un comportamiento intermedio y el DF se comporta como en los estados del norte, es

mas frecuente en los grupos sociales con estilo de vida urbano. La salud de los mexicanos ha mejorado en las últimas cuatro generaciones, no obstante el progreso, las necesidades de salud de la población mexicana siguen siendo mayores. La DM es la causa de demanda de consulta externa en instituciones públicas y privadas y uno de los principales motivos para la hospitalización. Es mas frecuente en el medio urbano 63% que en el rural 37% y mayor en mujeres que en hombres. La esperanza de vida de un individuo diabético es de dos tercios de la esperada; los pacientes con complicaciones crónicas tienen el doble de posibilidades de morir que la población general (9).

Clasificación y mecanismo de daño:

Existen dos tipos principales de diabetes mellitus, llamados tipo 1 y tipo 2. La diabetes tipo 1 (antes juvenil) es una enfermedad autoinmune. El sistema inmunológico que usualmente es el responsable de defender al organismo contra infecciones bacterianas y virales, ataca los islotes celulares (aislados) del páncreas que producen la insulina e intenta destruirlos. Este proceso puede irse desarrollando por años, pero cuando aproximadamente el 90% de las células que producen insulina se han destruido, existe muy poca insulina circulando en el sistema para mantener la concentración de glucosa de la sangre dentro de los límites normales. A medida que la glucosa en la sangre aumenta, aparecen los síntomas de diabetes. Si la pérdida de producción de insulina es casi total y no se ha iniciado el tratamiento con insulina, se puede desarrollar una condición potencialmente mortal llamada cetoacidosis diabética. En la cetoacidosis, la glucosa en la sangre es generalmente mayor que 500 mg/dL, debido a que los productos secundarios del metabolismo de grasa, llamados cuerpos cetónicos, se acumulan en la sangre y la sangre se torna acídica. El tratamiento inmediato con líquidos e insulina es de vital importancia. Aunque durante algún tiempo se consideró una enfermedad propia de niños y adolescentes, ahora sabemos que la diabetes tipo 1 puede desarrollarse a cualquier edad. La diabetes tipo 1 requiere de una predisposición genética. La diabetes tipo 2 (antes no insulino-dependiente) se debe a la falta de respuesta o resistencia a la insulina, acompañada de la

incapacidad de producir suficiente insulina para sobreponerse a esta resistencia. El sobrepeso es el factor principal que origina la resistencia a la insulina. La diabetes tipo 2 frecuentemente es acompañada de un conjunto de irregularidades que incluyen obesidad, aumento de la grasa abdominal, presión sanguínea alta y niveles anormales de grasa en la sangre (colesterol HDL bajo y triglicéridos altos). Normalmente, las personas que padecen diabetes tipo 2 no desarrollan cetoacidosis diabética. Parece que la diabetes tipo 2 también requiere de una predisposición genética.

Prevención y complicaciones:

No existe una forma comprobada de prevenir la diabetes ya sea tipo 1 ó 2. Se ha demostrado que la diabetes tipo 1, cuando se encuentra en su etapa inicial, se puede detener con una potente medicina llamada **ciclosporina** que suprime el sistema inmunológico del organismo. Sin embargo, tomar ciclosporina puede presentar más riesgos que padecer diabetes, de tal manera que no se debe recomendar excepto en un ambiente de investigación clínica. Actualmente, se realizan estudios para lograr la prevención tanto para diabetes tipo 1 como tipo 2, y posiblemente en el futuro se logre prevenir la enfermedad. Una persona que no ha controlado bien su diabetes durante 10 años o más puede sufrir una serie de complicaciones. Existen cuatro tipos principales que se describen a continuación:

1. **Retinopatía:** proceso que los niveles de glucosa en la sangre dañan la retina de los ojos. Eventualmente, el daño a la retina puede ocasionar sangrado dentro del ojo y ceguera.
2. **Nefropatía:** Proceso que daña los riñones debido a un alto contenido de glucosa en la sangre. A medida que esta condición avanza, la persona que padece diabetes desarrolla presión alta (hipertensión), hinchazón de los tobillos, y se encuentra proteína en la orina. Si no se trata, la nefropatía puede ocasionar insuficiencia renal, lo cual podría necesitar de diálisis o incluso transplante de riñón.

3. **Neuropatía:** proceso en el cual el alto contenido de glucosa en la sangre daña los nervios periféricos, los "circuitos" que conectan el cerebro con las diferentes partes del cuerpo. Normalmente, los nervios más largos del cuerpo son los que afecta primero. Estos son los nervios que conectan el cerebro y los pies. De tal manera, la neuropatía puede ocasionar pérdida de la sensación, entumecimiento y dolor en los pies. La diabetes también puede ocasionar neuropatía autónoma que resulta en el vómito de la comida sin digerir, diarrea, baja presión sanguínea al estar de pie y disfunción eréctil (impotencia sexual) en los hombres.
4. **Aterosclerosis avanzada:** La diabetes acelera la aterosclerosis, el proceso que ocasiona el estrechamiento de las arterias por desarrollo de placas adiposas, lo que puede provocar un ataque al corazón, derrame cerebral y la necesidad de amputaciones. Los ataques al corazón y los derrames cerebrales son problemas potencialmente amenazantes para la vida.

En cuanto al tratamiento la diabetes tipo 1 requiere tratamiento con insulina inyectada. Y existen 3 tipos de insulina y por lo menos 3 inyecciones diarias:

Acción rápida (2 a 6 horas)	Insulina regular, insulina lispro
Acción intermedia (8 a 16 horas)	Insulina NPH
Acción prolongada (18 a 24 horas)	Insulina ultralenta, insulina glargina

Los métodos de tratamiento para la diabetes tipo 2 son más variados. Debido a que la mayoría de las personas que padecen diabetes tipo 2 tienen sobrepeso, la pérdida de peso por medio de la dieta y el ejercicio es muy importante y generalmente éste es el primer tratamiento que se intenta. Si la persona que padece diabetes tipo 2 puede perder peso, se reducirá la resistencia a la insulina y la insulina que se produce controlará mejor la glucosa en la sangre. Si la persona pierde suficiente peso, la diabetes tipo 2 podría desaparecer. Las medicinas que se encuentran disponibles actualmente para el tratamiento de la diabetes tipo 2 se incluyen dentro de los siguientes grupos:

Estimuladores de insulina	gliburida, glipizida, glimepirida, repaglinida
Sensibilizantes de insulina	metformina, rosiglitazona, pioglitazona
Inhibidores de la digestión de carbohidratos	Acarbosa, miglitol
Insulina	todos los tipos de insulina utilizados para la diabetes tipo 1

La gliburida, la glipizida y la glimepirida son todas sulfonilureas que estimulan los islotes pancreáticos para que secreten más insulina. La repaglinida pertenece a una clase distinta de medicinas, pero también estimula la secreción de insulina. La repaglinida es de acción corta y debe tomarse antes de cada comida. La metformina no estimula la secreción de insulina, pero en lugar de esto reduce la resistencia a la insulina. La rosiglitazona y la pioglitazona pertenecen a una clase distinta de medicinas pero también reducen la resistencia a la insulina. La acarbosa y el miglitol interfieren en la digestión y la absorción de los alimentos que contienen carbohidratos. Se toman antes de las comidas y reducen el aumento de la glucosa en la sangre después de comer. Finalmente, casi siempre la insulina es necesaria para tratar la diabetes tipo 2. Sin embargo, la forma en que la insulina se utiliza para el tratamiento de la diabetes tipo 2 es diferente de la forma en que se utiliza para el tratamiento de la diabetes tipo 1(9).

Incidencia de diabetes mellitus post-traplante:

Existe poca información con estudios prospectivos y aleatorios de DM post-trasplante y su relación a inmunosupresores, principalmente los relacionados con inhibidores de calcineurina como son ciclosporina (CsA) y tacrolimus (Tac).

Tacrolimus es un potencial inmunosupresor usado en trasplante de órganos sólidos (renal en este caso), que después de este se ha reportado la incidencia de DM post-trasplante(DMPT) de un 8% hasta un 36%, sin embargo esta frecuencia

ha dependido del grupo en estudio, donde se toman diferentes parámetros de acuerdo al grupo étnico perteneciente (10). Un estudio realizado en febrero de 2002 publicó que la frecuencia ha sido de un 4.9% a 5.7% de DM con Tac, comparando con CsA con un 3.3%. Se propone que una terapia gradual con Tac y prednisona es apta para el desarrollo de DM pero sin embargo minimiza la posibilidad de rechazo, por lo que esto se sugiere emplear a aquellos RTR con un bajo riesgo de desarrollo de DM (esto es tomando su historial clínico) (11).

Estudios mas recientes han asociado al tacrolimus con la alta incidencia de DMPT en RTR coreana y de acuerdo con los criterios de la Asociación Americana de Diabetes, esto es, en el primer mes se observó una incidencia de un 52.4% y de un 57.1% a los 3 y 6 meses después de iniciado su tratamiento; esto en un grupo de RTR mayor a 40 años (12).

El desarrollo de diabetes mellitus post-transplante (DMPT) es una seria complicación e incluso una de los riesgos mas importantes ya que incrementa también el riesgo de enfermedad isquémica cardiaca, enfermedad cerebro vascular entre otras. En 1990 un estudio clínico comparando ciclosporina versus tacrolimus se tuvo como resultado que el TAC presentaba mayor incidencia en el riesgo de DMPT respecto a los pacientes que recibían tratamiento con ciclosporina. Después de 1 año se observó un incremento de un 6% . A 3 años la incidencia aumentó en un 8.7% en ciclosporina y un 17.1% en tacrolimus, aunque el incremento también fue atribuido a cambios del propio paciente como edad, genética etc. (13).

Resistencia a la insulina e índice de HOMA:

Como ya se ha mencionado, la resistencia insulínica (RI) es una disminución de la función biológica de la insulina caracterizada por un alto nivel de la misma que es requerido para mantener la homeostasis metabólica. Se le considera involucrada en la etiología de enfermedades como la diabetes mellitus tipo 2, la enfermedad coronaria y la hipertensión arterial. Matthews y cols. presentaron un modelo matemático (HOMA) que permite estimar la presencia de resistencia insulínica y la función de las células beta esto es: $HOMA_{IR} = (\text{insulina basal} \times \text{glucosa basal})/450$. El modelo matemático HOMA (homeostasis model assessment) es un método simple, de bajo costo y poco invasivo lo que es una ventaja en la práctica clínica y en estudios poblacionales. Permite realizar estimaciones de RI y función de las células Beta mediante mediciones de glucosa e insulina plasmática en ayunas. Se le ha comparado y validado con el método del clamp y con la prueba de tolerancia a la insulina. Sin embargo, este modelo ha sido criticado por presentar variabilidad debido que la sensibilidad a la insulina es muy variable, aún entre los individuos normales, y depende de la edad, de situaciones fisiológicas (pubertad, gestación y puerperio, envejecimiento), el tipo de la dieta, la actividad física y el momento del día. Un tema clave en la determinación del índice de resistencia insulínica mediante HOMA lo constituye la medición de insulina plasmática. Esta debe ser realizada mediante técnicas precisas y reproducibles. Se recomienda para ello utilizar un método de radioinmunoanálisis con doble anticuerpo, que permita muy poca o ninguna reactividad cruzada con proinsulina o sus derivados (14).

III. METODOLOGIA

Con objeto de comparar el efecto de TAC versus el efecto de CsA en el metabolismo de carbohidratos mas de secreción de insulina en receptores de trasplante renal (RTR), se realizó un estudio prospectivo, transversal y comparativo en los pacientes con trasplante renal del hospital Miguel Hidalgo en la ciudad de Aguascalientes por medio de su atención ambulatoria en consulta externa.

Pacientes:

Se trabajó con 20 RTR, los cuales se dividieron en 2 grupos, 10 pacientes con tratamiento inmunosupresivo de TAC + MMF+ PDN grupo A y grupo B 10 RTR con CsA + MMF+ PDN, pareados por edad \pm 4 años, género y fecha de trasplante (\pm 3 meses) como grupo control. Quedaron excluidos aquellos con el diagnóstico de diabetes mellitus (DM) antes de la realización del trasplante, así como los pacientes con familiares directos con DM (padres, hijos, hermanos) o intolerantes a carbohidratos, antecedentes de episodios de rechazo agudo, hipertensión arterial sistémica, RTR con segundo trasplante, que cursaban alguna enfermedad infecciosa en el momento del estudio, hipersensibles al tacrolimus, que estuviesen tomando mas de 10mg de prednisona y con IMC \geq 27. Dentro de los criterios de inclusión se tomaron en cuenta como parámetros de inclusión pacientes de edad entre 18 y 60 años, ambos sexos, tiempo de trasplante de 1 a 3 años, función renal estable (creatinina sérica menor a 1.7), población mexicana de la región centro Querétaro, Aguascalientes, Zacatecas, Michoacán y Guanajuato, con la autorización escrita por parte del paciente.

Mediciones y análisis:

Se realizaron estudios de:

- Curva de tolerancia a la glucosa de 2 horas.
- Determinación de insulina basal, a los 60 y 120 minutos.
- Determinación de colesterol y triglicéridos.
- Niveles séricos de tacrolimus y/o ciclosporina según al grupo perteneciente.
- La dosificación de la glucosa se hizo en ayunas y después de una sobrecarga de glucosa de 75 g a los 30 minutos, y así sucesivamente hasta completar 2hrs, con la utilización del método de dosificación en suero glucosa-oxidasa en analizador automático de química seca con el aparato vitros Johnson & Johnson .
- La determinación de insulina se realizó por método MEIA Axsym Abbott así como las determinaciones de ciclosporina.
- Las determinación de tacrolimus por método MEIA IMX Abbott.
- El colesterol y los triglicéridos se determinaron por medio de química húmeda Alcyon Abbott.
- La interpretación fue la siguiente:
- Estimación de insulinoresistencia por método HOMA se realizó teniendo en cuenta:

$RI = \text{glucosa basal} \times \text{insulina basal} / 450 = \text{HOMA}$ considerándose Resistente a la Insulina un valor mayor a 2.5.

También se incluyó examen físico: peso, talla, índice cintura/cadera, IMC y composición corporal total (mejor conocido como Tanita) y su valoración de síndrome metabólico por endocrinología. Se elaboró una carta de consentimiento (anexo 1) para cada paciente.

Análisis estadístico:

El análisis estadístico se realizó con prueba de t de no pareada y prueba exacta de Fisher. Se consideró un valor significativo a una $p < 0.05$.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se estudiaron 20 pacientes RTR, con predominio femenino de 11 mujeres y 9 hombres siendo el promedio de edad 27.8 ± 8.4 años. Se tomaron en cuenta la dosis de prednisona acumulada desde el inicio del trasplante hasta el momento del estudio, siendo el promedio para TAC de 6369 ± 2596 y de 7907 ± 3809 mg para CsA sin diferencia estadística significativa, dosis de prednisona por día promedio de 8.7 ± 1.7 en RTR con TAC y 8.5 ± 1.7 con CsA en los cuales tampoco se observa diferencia entre la dosis de ambos grupos, índice de masa corporal e índice cintura cadera (cuadro I).

Cuadro I. Promedio comparativo TAC-CsA en dosis de Prednisona.

	TAC (n=10)	CsA (n=10)	p
Edad (años)	27.8 ± 8.4	28 ± 9	0.83
Masculino (%)	60	30	0.37
IMC	24 ± 4	24 ± 5	0.99
Índice cintura /cadera (ICC)	0.89 ± 0.12	0.87 ± 0.10	0.66
Prednisona (mg/día)	8.7 ± 1.7	8.5 ± 1.7	0.75
Dosis acumulada de prednisona (mg)	6369 ± 2596	7907 ± 3809	0.30

En cuanto al nivel sérico de TAC los pacientes mantienen un promedio de 5 ± 1.3 en niveles normales bajos si tomamos en cuenta los manejados por el laboratorio que van de 5 a 7 después de 6 meses de iniciado su tratamiento y los pacientes con CsA de 65.8 ± 36 que de igual manera les ha sido controlado y mantienen niveles séricos normales con su dosis adecuada de acuerdo a su tratamiento (cuadro II). La función renal también cumplió las condiciones adecuadas para el estudio ya que el promedio de la creatinina fue de 0.9 a 1.6 mg/dL, para ambos grupos.

Cuadro II. Promedio de resultados analizados en grupos TAC - CsA

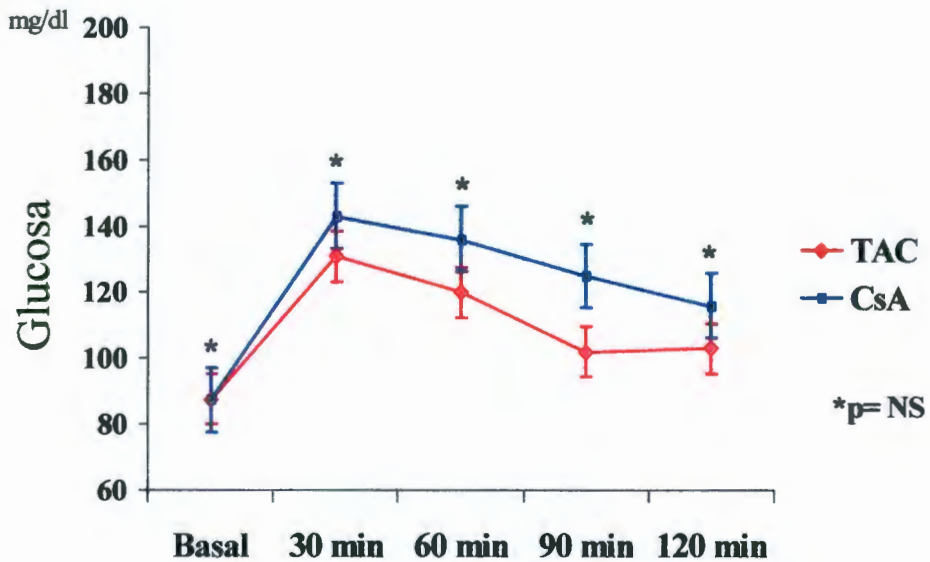
	TAC (n=10)	CsA (n=10)	p
Hipertensión (%)	50	60	1.00
Nivel sérico de TAC (ng/dL)	5±1.3	0	
Nivel sérico de CsA (ng/dL)	0	65.8±36	
CrS (mg/dL)	1.2±0.3	1.3±0.3	0.72
Colesterol (mg/dL)	153±24	156±25	0.76
Triglicéridos (mg/dL)	115±48	133±49	0.42
Glucosa basal (mg/dL)	88±9	87±8	0.93
Intolerancia a carbohidratos por CTOG (número de pacientes)	1	2	1.00
Resistencia a la insulina por índice de HOMA (número de pacientes)	3	3	1.00
Seguimiento (meses)	20.2±9	27±13	0.17

Los pacientes no presentaban ninguna enfermedad en el momento del estudio, gozando de salud permanente desde el inicio de su tratamiento con trasplante renal, su presión arterial era la adecuada, sus niveles séricos de colesterol y triglicéridos fueron normales confirmando así que no hubo ningún problema de algún trastorno en su metabolismo de lípidos.

En lo que respecta a la curva de tolerancia a la glucosa los resultados fueron muy similares en ambos grupos, aunque resultaron pacientes intolerantes a carbohidratos por la CTOG, 2 en el grupo CsA y 1 RTR en TAC pero sin diferencia estadística significativa (gráfica I).

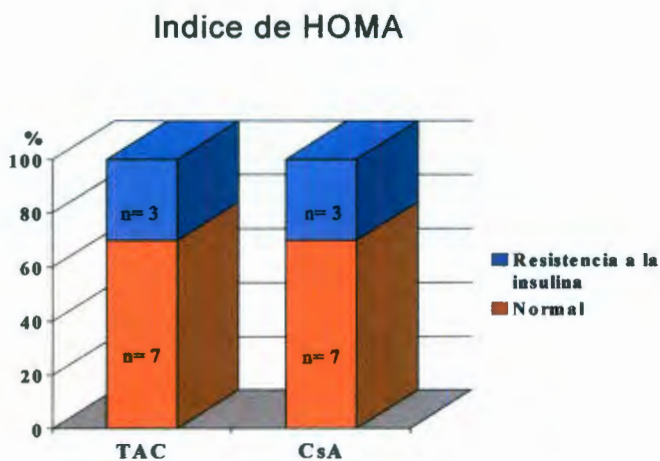
Gráfica I.

Análisis de CTOG en RTR con TAC versus CsA



Por índice de HOMA obtuvimos un valor igual en ambos grupos, es decir el 30% de la población estudiada presentó resistencia a la insulina por éste método, aún siendo pacientes sin ningún antecedente heredo-familiar que como ya se mencionó es un modelo matemático confiable y usado en la actualidad que permite estimar la presencia de resistencia Insulínica y la función de las células beta (gráfica II).

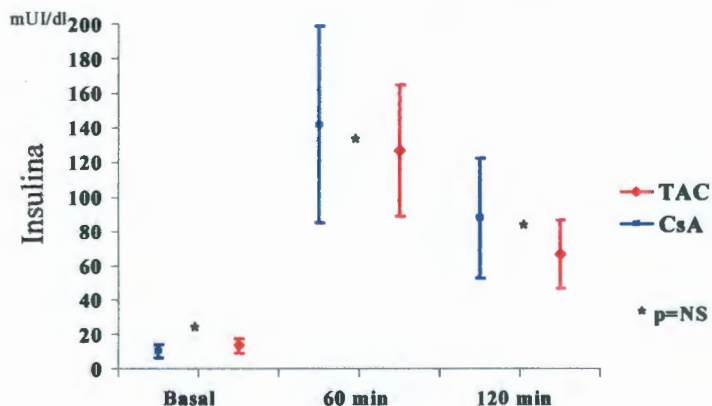
Gráfica II.



En lo que respecta a los niveles séricos de insulina se observó una producción ligeramente elevada en pacientes con ciclosporina respecto a RTR con tacrolimus comprobando así una mayor incidencia de intolerancia a carbohidratos en ciclosporina que tacrolimus, esto según los resultados obtenidos por la CTOG donde 2 de cada 10 con CsA pero sin mayor diferencias significativas (gráfica III).

Gráfica III.

Niveles de insulina en RTR con TAC versus CsA



Este estudio documenta el 30% de resistencia a la insulina, el cual es mayor en comparación con el estudio del Dr. González Villalpando y el Dr. Haffner en población abierta en la ciudad de México realizado en 1995, donde el porcentaje general de la prevalencia a la resistencia a la insulina fue del 22.6% (15) este aumento en nuestra población estudiada creemos que es debido al uso de inhibidores de calcineurina y esteroides. Al realizar la comparación de las alteraciones en metabolismo de carbohidratos y secreción de insulina por grupo de estudio TAC versus CsA, no se observó diferencia significativa en la frecuencia de resistencia a la insulina e intolerancia a carbohidratos, este hallazgo es muy importante en nuestro estudio debido a que TAC produce una mayor toxicidad pancreática que CsA; sin embargo se demuestra que en población de bajo riesgo para DM y con el empleo de niveles séricos de TAC en límites normales bajos disminuye el efecto deletéreo de TAC a nivel pancreático.

V. CONCLUSIONES

La prevalencia de resistencia a la insulina en la población estudiada fue del 30%, porcentaje alto si tomamos en cuenta que son RTR jóvenes con bajo riesgo para el desarrollo de DM. En el estudio, la frecuencia de resistencia a la insulina en el grupo de RTR que utilizaban TAC+MMF+PDN fue similar a la observada en los pacientes que emplearon CsA+MMF+PDN, destacando que el efecto potencialmente tóxico de TAC puede ser limitado con una selección adecuada de los pacientes y manteniendo niveles séricos bajos de este inmunosupresor.

VI. LITERATURA CITADA

1. Fung John, Tacrolimus and Trasplantation: A decade in Review, Transplantation vol. 77, S41-S43, No 9, May 15, 2004.
2. Murray et al 1997, Bioquímica de Harper, El Manual Moderno, México.
3. Valles Victoria, Bioquímica y Metabolismo, Esp. en Bioquímica Clínica, Facultad de Química UAQ curso 2003.
4. Montgomery et al, 1999, Bioquímica, Harcourt Brace, Madrid España.
5. Roitt Iván M., 1998, Fundamentos de Inmunología, Ed. Médica Panamericana, Buenos Aires, Argentina.
6. Granados A. Julio, Inmunología, Esp. Bioquímica Clínica, Facultad de Química UAQ curso 2003.
7. Lieberman Ronald, Mukherjee A., 1995, Principles of Drug Development en Trasplantation and Autoimmunity, Chapman & Hall, New York, USA.
8. Inserto ABBOTT Tacrolimus, Alemania 1998.
9. Moreno-Altamirano L., Epidemiología y Diabetes, Dpto. de Salud Pública, Facultad de Medicina, UNAM 2001.
10. Van Du H., Elly et al, Influence of Tacrolimus on glucose Metabolism before and after renal Transplantation: A prospective study, Journal American Society Nephrol 12:583-588, 2001.

11. Roy First M et al, Posttrasplant diabetes mellitus in kidney allograft recipients: incidence risk factors an management. Trasplantation 2002 February 15, 73(3): 379-386.
12. Min Cho Young, Soo Park K et al, High Incidence of Tacrolimus-Associated Posttransplation diabetes in the Korean Renal Allograft Recipients According to American Diabetes Association criteria. Diabetes Care, Vol. 26:1123-1128, Number 4, April 2003.
13. Vincent Flavio, A Decade of Progress in kidney transplantation. Transplantation May 15, 2004; vol. 77 S52-S61, No. 9.
14. Acosta B., Escalona M., et al, Determinación del índice de Resistencia Insulínica mediante HOMA en una población de la región metropolitana de Chile. Rev. Médica de Chile 2002; 130:1227-1231.
15. González C, Stern TA, Haffner S. et al, The Insulin Resistance síndrome in México. Prevalence and clinical characteristics: A population based study. Arch Med Res 1995, 26 (suppl): 59-515.

APENDICE

Anexo 1:

Hoja de consentimiento informado.

Protocolo "Efecto del tacrolimus en el metabolismo de carbohidratos en receptores humanos sometidos a trasplante renal"

Aguascalientes Ags., a ____ de _____ de 2004.

Yo _____ autorizo al Servicio de Nefrología y Trasplantes del Hospital Miguel Hidalgo para que me incluyan en su protocolo de investigación "Efecto del tacrolimus en el metabolismo de carbohidratos en receptores humanos sometidos a trasplante renal". Se me ha explicado en forma extensa que se me realizarán estudios de colesterol, triglicéridos, curva de tolerancia a la glucosa de 2 horas con toma simultánea de insulina basal, 60 y 120 minutos, para lo que requieren tomarme 5 muestras sanguíneas con una sola punción y catéter para toma de muestra cada media hora según el método utilizado por el laboratorio, medición de creatinina y mi dosis sérica de tacrolimus o ciclosporina según sea mi tratamiento. Durante la prueba de la curva de tolerancia a la glucosa recibiré una carga de glucosa tomada con la cual se me pueden presentar efectos como náusea o mareo pero sin mayores efectos adversos. En el tiempo que permanezca en el estudio, estará la química responsable al pendiente de mi prueba. Entiendo que este estudio me será benéfico para tener una valoración metabólica completa y que puede modificar mi tratamiento de acuerdo a los resultados obtenidos. Se me ha informado que puedo retirarme sin ninguna consecuencia en mi persona.

Nombre y firma del paciente.

Nombre y firma del 1er testigo.

Nombre y firma de la persona que explico el protocolo.

***No hay satisfacción mas grande que la constante
conciencia del deber cumplido y hasta hoy lo
logrado...***