

REVISIÓN NARRATIVA DE LA LITERATURA

Biomonitoreo de la inestabilidad genómica en pacientes con diabetes mellitus

Biomonitoring of genomic instability in patients with diabetes mellitus

Cristopher Rivera-Torres¹, Verónica Ramírez-Valencia¹, Melissa Guadalupe Hernández-González¹, Steffi Verbeek¹, José Montañez-Ramos², José de Jesús Lares-Contreras¹, María Pilar Toussaint-Padilla¹

Editora: Allison Abril Cibrián-Suárez³

Revisor: Ulises Iván Pérez-Sandoval⁴

Recibido en junio 22, 2022; revisado, julio 10, 2022; aceptado, octubre 20, 2022; publicado, enero 5, 2023.

Como citar este artículo: Rivera-Torres C, Ramírez-Valencia V, Hernández-González MG, Verbeek S, Montañez-Ramos J, Lares-Contreras JJ, Toussaint-Padilla MP. Biomonitoreo de la inestabilidad genómica en pacientes con diabetes mellitus. *Ósmosis Revista Médica Estudiantil*. 2023; 1(2): 10-16.

La propiedad intelectual de este artículo le pertenece a los autores. "Ósmosis Revista Médica Estudiantil" es un proyecto de libre acceso y se rige completamente bajo el criterio legal de Creative Commons en su licencia Atribución-No Comercial-Sin Derivadas 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0)

Keywords

Diabetes complications
Mutagenicity tests
DNA damage
Genomic instability
Micronuclei
Chromosome aberrations

Correspondencia

Cristopher Rivera-Torres
cristopher.r198@gmail.com

¹ Universidad Autónoma de Guadalajara,
Facultad de Medicina; Jalisco, México.

² Coordinación de Fisiopatología,
Universidad Autónoma de Guadalajara;
Jalisco, México.

³ Universidad de Guadalajara, Centro
Universitario de Ciencias de la Salud; Jalisco,
México.

⁴ Servicio de Endocrinología del Hospital Civil
Fray Antonio Alcalde; Guadalajara, Jalisco,
México.

Abstract

Diabetes mellitus (DM) represents a global health problem with a high incidence, placing it as the most common endocrinological disease in Mexico; in addition, its complications can endanger the lives of patients, this due to the macrovascular and microvascular damages which are widely described in various literatures. The present article will address the damage that DM can cause at the genomic level, if it is capable of causing genomic instability and determine the associated cellular damage that it can represent; this through a narrative review of the literature based on the studies that use the micronuclei test, considered biomarkers that determine a chromosomal aberration and therefore a genomic instability.

Introducción

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad metabólica cuya fisiopatología se centra en aberraciones que afectan la secreción y funcionamiento de la insulina, hormona encargada del metabolismo de ciertos macronutrientes, en mayor medida, la glucosa. Debido a esta anomalía, el resultado es la presencia de hiperglucemia, situación que favorece la aparición de daño a

Resumen

La diabetes mellitus (DM) representa un problema de salud a nivel mundial y se sitúa como la enfermedad endocrinológica más común en México; además, sus complicaciones pueden llegar a poner en riesgo la vida de los pacientes, debido a los daños macrovasculares y microvasculares, los cuales son ampliamente descritos en diversas literaturas. En el presente artículo se abordará el daño que puede ocasionar la DM a nivel genómico, si es capaz de ocasionar una inestabilidad genómica y determinar el daño celular asociado que puede representar; esto mediante una revisión narrativa de literatura, con base en estudios que emplean la prueba de micronúcleos, considerados biomarcadores determinantes de una aberración cromosómica y, por lo tanto, una inestabilidad genómica.

Palabras clave: Complicaciones de la diabetes, Pruebas de mutagenicidad, Daños en el ADN, Inestabilidad genómica, Micronúcleos, Aberraciones cromosómicas.

órganos y tejidos tales como ojo, riñón, corazón, nervios y vasos sanguíneos [1].

Múltiples procesos patológicos son responsables del progreso de esta enfermedad, propiedad que permitió desarrollar una clasificación basada en la etiopatogenia: DM tipo 1, tipo 2 y diabetes gestacional. En la primera, existe una absoluta ausencia de secreción de insulina, debido a la presencia de anticuerpos autoinmunes que actúan sobre los islotes pancreáticos, afectando su correcto funcionamiento.

La DM tipo 2 se caracteriza por resistencia a la insulina y una inadecuada respuesta que pueda compensar su mal funcionamiento; sin embargo, ambos mecanismos pueden coexistir. En el caso de la DM gestacional, existe un cambio en la sensibilidad a la insulina en los tejidos maternos que propician la aparición de esta patología [1].

La hiperglucemia se manifiesta con los síntomas característicos de la DM, que son poliuria, polidipsia, polifagia, pérdida de peso y visión borrosa. En un estado crónico, hay mayor susceptibilidad a ciertas infecciones. Las complicaciones agudas características, como la cetoacidosis diabética (CAD) y el coma hiperosmolar hiperglucémico son comunes [1].

A largo plazo, las complicaciones son distintas e incluyen: retinopatía con posible pérdida de la visión; nefropatía desencadenante de insuficiencia renal; neuropatía periférica con riesgo de lesiones ulcerativas en miembros inferiores, amputaciones, pie de Charcot; neuropatía autonómica con manifestaciones gastrointestinales, genitourinarias y

Material y métodos

Se realizó un estudio de revisión narrativa de literatura con el objetivo de demostrar la eficacia de la prueba de micronúcleos como biomarcador de inestabilidad genómica y la prevalencia de estos en la diabetes mellitus.

Se elaboró mediante una búsqueda electrónica de artículos científicos en las plataformas ELSEVIER, *PubMed*, *Medline*, Scielo y *Google Scholar*. La búsqueda inicial arrojó un total de 84 artículos, de los cuales, se incluyeron 20 en la presente revisión. Las palabras claves buscadas en los idiomas inglés y español fueron: "genotoxicidad", "atipias nucleares", "micronúcleos", "linfocitos", "células exfoliadas de mucosa oral", "aberración cromosomal", "daño al DNA", "citotoxicidad".

Los artículos seleccionados se evaluaron conforme el método CASPe y se utilizaron únicamente ensayos clínicos que compararan la frecuencia de micronúcleos y otros daños del ADN. Los criterios de inclusión fueron: publicaciones en inglés y/o español, entre los años 2004 a 2022 y estudios que incluyeran descripción de la metodología y/o protocolo del ensayo de micronúcleos.

cardiovasculares, y disfunción sexual. Además de esto se ha visto que los pacientes con DM tienen una incidencia elevada de comorbilidades como aterosclerosis, enfermedad arterial periférica y accidentes cerebrovasculares [1].

Epidemiología

A nivel mundial, aproximadamente 200 millones de personas padecen DM tipo 2 y, en el 2018, la Asociación Americana de la Diabetes estimó que su prevalencia aumentará a más de 300 millones en los próximos 20 años. Se cree que para el año 2030

habrá una duplicación de la cifra debido a un incremento en la urbanización y el envejecimiento en la población [2].

Diabetes mellitus y genotoxicidad

Se ha visto que la DM2 se asocia a daño al ADN, lo que aumenta la susceptibilidad a mutágenos y disminuye la eficacia de la reparación del mismo. Este mecanismo puede provocar inestabilidad genómica y propiciar el desarrollo de cáncer, sin embargo, el proceso por el cual se afecta no está claro aún [3].

Entre los estudios evaluados, se encontró que un gran porcentaje de pacientes presentaba procesos patológicos como una secreción deficiente de insulina y resistencia a la misma. Además, se ha determinado que hay ciertos factores genéticos involucrados en aberraciones nucleares, asociados con la presencia de inflamación, estrés metabólico y radicales libres de oxígeno [4].

La producción acelerada de radicales libres (RL) causa daño oxidativo a nivel genético, generando ruptura de cadenas de ADN y formación de micronúcleos; asimismo, se cree que este tipo de daño podría tener efectos teratogénicos y cancerígenos en niños prematuros nacidos de madres con patologías relacionadas con el estrés oxidativo, como DM, hipertensión arterial, etc. [5].

Micronúcleos

Los micronúcleos (MN) (figura 1) son un excelente método de monitoreo de daño genético; se utilizan como biomarcadores para la identificación de inestabilidad genómica, lo que permite una detección temprana de neoplasias. Su formación sucede durante la mitosis, en la transición de metafase a anafase, debido al daño en el huso mitótico, provocando la presencia de cromosomas completos rezagados (efecto aneuploidógeno), o fragmentos de cromosomas sin centrómeros (daño clastogénico) [6,7].

La prueba de MN se realiza mediante la obtención de sangre periférica, con la cual se analizan eritrocitos, linfocitos y células epiteliales o cualquier tejido donde haya una replicación celular [7].

Biomarcadores de efecto

Existen diferentes tipos de biomarcadores genéticos; algunos miden efectos genotóxicos y reflejan mutaciones y/o cambios permanentes a nivel celular; otros evalúan el daño antiguo, originado en capas basales del mismo epitelio. De esta manera, los biomarcadores juegan un papel importante en la determinación del daño acumulado, sobre todo el daño cromosómico, ya sea estructural o numérico, y los cambios a nivel subcelular [7].

Tipos de aberración

Se consideran dos tipos de desprendimiento que con mayor frecuencia se ven implicados en la micronucleogénesis: el primer tipo es por pérdida o ganancia de cromosomas completos (aneuploidía o tipo aneuploidogénico), lo cual causa rotura total secundaria al bloqueo de los microtúbulos. El otro, es por roturas de cromátidas (tipo clastogénico) que causa una rotura parcial del cromosoma por la inestabilidad de la unión de las bases [8].

Prueba de micronúcleos

Esta prueba de genotoxicidad, la cual se aplica tanto *in vitro* como *in vivo*, tiene como función principal la evaluación de los efectos mutagénicos de los contaminantes. Como ya se mencionó, se aplica fácilmente en diferentes tipos de tejidos y células, y actualmente se aplica de forma rutinaria para medir la rotura o pérdida de cromosomas, la reparación alterada del ADN, la no disyunción, la necrosis, la apoptosis y la citostasis. Por su fácil aplicación se considera que esta prueba tiene ventajas sobre otros métodos citogenéticos [8,9].

Resultados

Se incluyeron un total de 1,085 pacientes de diversos estudios publicados, los cuales presentan patologías como DM tipo 1 y 2, diabetes gestacional, neuropatía diabética y otras complicaciones asociadas (tabla 1). Los resultados, con base en los artículos revisados, se correlacionan entre sí, concluyendo en su mayoría que los pacientes con DM presentan daño a nivel genético, que resulta en una inestabilidad

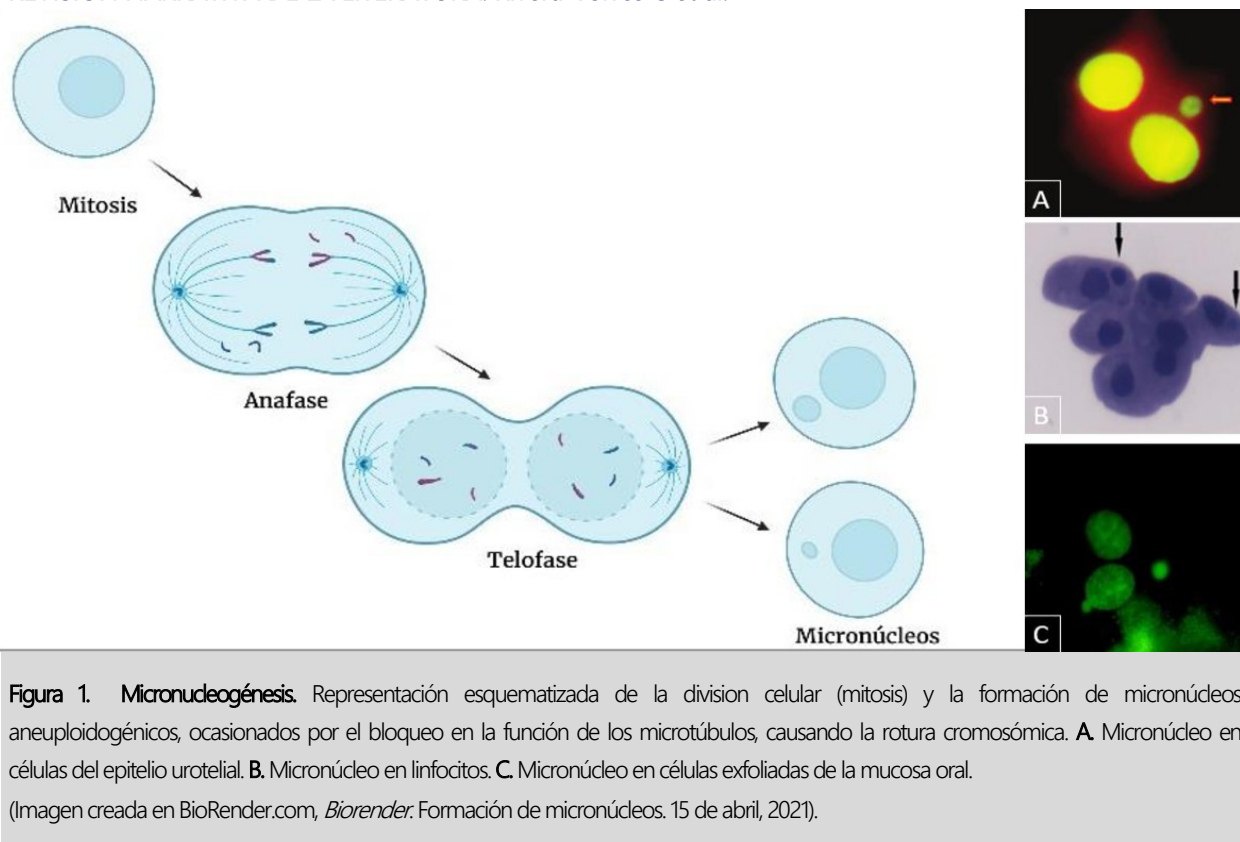


Figura 1. Micronucleogénesis. Representación esquematizada de la división celular (mitosis) y la formación de micronúcleos aneuploidogénicos, ocasionados por el bloqueo en la función de los microtúbulos, causando la rotura cromosómica. **A.** Micronúcleo en células del epitelio urotelial. **B.** Micronúcleo en linfocitos. **C.** Micronúcleo en células exfoliadas de la mucosa oral. (Imagen creada en BioRender.com, *Biorender*: Formación de micronúcleos. 15 de abril, 2021).

genómica. Esto se comprueba con el aumento en la frecuencia de micronúcleos, en comparación con los pacientes sanos.

Así mismo, cabe reconocer que, en el caso de la DM, existe una mejor predicción de errores cromosómicos mediante la evaluación de micronúcleos en sangre periférica (linfocitos), no obstante, se puede realizar en cualquier tejido con actividad mitótica.

Discusión

Los micronúcleos se han relacionado durante mucho tiempo con la inestabilidad cromosómica, los reordenamientos del genoma y la mutagénesis. Se encuentran con frecuencia en cánceres y diversas patologías, en las cuales el estrés oxidativo, los radicales libres, la inflamación y los factores genéticos se ven implicados.

La integridad que compromete la envoltura micronuclear retrasa o interrumpe la replicación, inhibe la reparación y expone el ADN directamente al citoplasma, por lo que los micronúcleos juegan un papel central en la formación de tumores, siendo el ADN micronuclear una fuente importante de reordenamientos genómicos complejos.

Además de los micronúcleos, podemos encontrar una serie de procesos que también contribuyen en el daño al ADN celular de manera más precoz, los cuales se denominan atipias nucleares. Las más frecuentes son la cariorrexis (CR), cromatina condensada (CC), cariólisis (CL), núcleo lobulado (NL) y binucleación (BN).

Las atipias nucleares se pueden englobar en grupos de acuerdo el tipo de daño nuclear que representan, entre los cuales se encuentran: marcadores de daño al ADN (MN y NL), defectos en la citocinesis (BN), evidencia de muerte celular (CC, CR, BN, y CL), indicadores de diferentes etapas de necrosis, (PN, CC, CR, CL), e identificador de respuesta al daño celular (BN y CC) [17].

Shaik *et al.* realizaron un estudio de casos y controles donde exponen una fuerte asociación entre el tratamiento a largo plazo con esquema dual a base pioglitazona-glimepirida y un aumento en la frecuencia de MN en pacientes con DM; esta relación la atribuyen a que ambos medicamentos tienen la capacidad de estimular la producción de radicales libres, lo que conlleva a lesión celular y daño al ADN, conduciendo finalmente a la producción de micronúcleos [11].

Del mismo modo, se demostró que la terapia con los hipoglucemiantes orales glimepirida y metformina, tanto en su uso individual como en conjunto, presentan un incremento en las aberraciones genómicas. Los resultados de Harishankar *et al.* arrojaron que la frecuencia de MN con el uso de glimepirida fue de 17.52 ± 3.28 ; con metformina, de 23.02 ± 4.44 , y con el dual, de 24.98 ± 2.87 . demostrando que la metformina tiene un mayor efecto genotóxico [13].

En otro estudio de casos y controles publicado por Mahdiah *et al.* se comprueba que la DM, por sí misma, es un estado que favorece el aumento de MN y que, a mayor tiempo de evolución de la patología, mayor es la inestabilidad genómica. De igual manera, un importante aumento en la frecuencia de MN es observado en los grupos con nefropatía, mas no se encuentra una relación con la temporalidad o severidad de la misma, sino que el origen que une ambos procesos, tanto la

ESTUDIO	CÉLULAS EVALUADAS	GRUPOS/ POBLACIÓN	FRECUENCIA DE MN
Martínez <i>et al.</i> (3)	Sangre periférica, Linfocitos	DM2 (n=15) CTRL (n=10) Total (n=25)	6.53 ± 2.03 3.10 ± 1.79
Colchado <i>et al.</i> (10)	Células exfoliadas de mucosa oral	DM2 (n=50) CTRL (n=24) Total (n= 74)	$7,5200 \pm 0,71385$ $1,3750 \pm 0,87539$
Shaik <i>et al.</i> (11)	Células exfoliadas de mucosa oral	DM2 (n=127) CTRL (n=140) Total (n=267)	8.63 ± 2.23 2.93 ± 1.4
Salimi <i>et al.</i> (12)	Sangre periférica, Linfocitos	DM2 (n=50) DM2 + ND (n=50) ND sin síntomas de hiperglucemia (n=50) CTRL (n=50) Total (n=200)	36.08 ± 8.03 43.7 ± 6.6 42.18 ± 5.51 24.76 ± 3.30
Harishankar <i>et al.</i> (13)	Células exfoliadas uroteliales	DM2 (n=147) CTRL (n=52) Total (n=204)	24.98 ± 2.87 5.02 ± 1.01
Binici <i>et al.</i> (14)	Sangre periférica, Linfocitos	DM2 (n=50) CTRL (n=80) Total (n=180)	3.45 ± 1.01 1.79 ± 0.67
Shettigar <i>et al.</i> (15)	Sangre periférica, Linfocitos	DM2 (n=25) CTRL (n=24) Total (n=49)	11.3 ± 3.5 9.3 ± 3.1
Pappuswamy <i>et al.</i> (16)	Sangre periférica, Linfocitos	DM2 (n=45) CTRL (n=45)	13.28 ± 8.63 4.12 ± 8.89

Tabla 1. Representación de los resultados obtenidos con base en la revisión bibliografía del aumento de micronúcleos en pacientes con diabetes mellitus, observados en diversos tejidos. MN, micronúcleos; DM2, diabetes mellitus tipo 2; CTRL, grupo control; ND, neuropatía diabética.

Evidencia elaborada por los autores.

producción de MN como la aparición de la nefropatía, se encuentra íntimamente ligado al estrés oxidativo [12].

Toljic *et al.* además de evaluar la frecuencia de MN en pacientes con DM tipo 1 y 2, añade un grupo del que poco se ha investigado respecto a este tema, el cual es la población con DM gestacional. Se tomaron muestras a mujeres embarazadas entre las 24-26 semanas de gestación (SDG) y sus resultados arrojaron un aumento notorio en la frecuencia de MN (12.76 ± 6.31) comparadas con su grupo control (6.32 ± 3.37) [18].

Con base en los resultados obtenidos, se confirma que en la DM gestacional existe un daño cromosómico, lo cual es relevante y de gran interés, ya que nos abre la puerta a pensar en la posibilidad e investigar si los productos de las madres con DM gestacional también pudieran presentar algún tipo de inestabilidad genómica o aberración nuclear desde el nacimiento.

Los resultados obtenidos en el presente estudio nos comprueban que en la DM tipo 1, 2 y gestacional, se desarrolla un daño a nivel genético, así como inestabilidad genómica, lo cual se debe tener en cuenta, ya que estas alteraciones mutagénicas pueden conllevar hasta un proceso neoplásico maligno.

Conclusión

Durante esta revisión se comprobó la utilidad de la prueba de micronúcleos como un biomarcador eficaz en la detección de inestabilidad genómica. La importancia del adecuado control de la DM no sólo recae en la prevención de complicaciones micro y macrovasculares, sino también en la de evitar el aumento de la frecuencia de aberraciones cromosómicas.

Asimismo, esta investigación sirve de parteaguas para que, en investigaciones posteriores, se profundice más en criterios de elección de terapias empleadas en el control de la DM, para evitar potenciar el efecto genotóxico en estos pacientes.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés con respecto al presente trabajo.

Referencias

1. American Diabetes Association; Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1 January 2004; 27 (suppl_1): s5-s10. <https://doi.org/10.2337/diacare.27.2007.S5>
2. Wild S et al. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*, 2004, 27:1047-1053
3. Martínez-Pérez, L. M., Cerda-Flores, R. M., Gallegos-Cabriales, E. C., Dávila-Rodríguez, M. I., Ibarra-Costilla, E., & Cortés-Gutiérrez, E. I. (2007). Frequency of micronuclei in Mexicans with type 2 diabetes mellitus. *Prague Med. Rep.*, 108(3), 248-255.
4. American Diabetes Association, January 2020 Volume 43, Supplement 1. Standards of Medical Care in Diabetes. online at care.diabetesjournals.org/content/43/Supplement_1.
5. Zúñiga-González, G. M., Batista-González, C. M., Gómez-Meda, B. C., Ramos-Ibarra, M. L., Zamora-Perez, A. L., Muñoz-Magallanes, T., ... & Gallegos-Arreola, M. P. (2007). Micronuclei in diabetes: folate supplementation diminishes micronuclei in diabetic patients but not in an animal model. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 634(1-2), 126-134. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2007.06.006>
6. handirasekar R, Murugan K, Muralisankar T, Uthayakumar V, Jayakumar R, Mohan K, et al. Genotoxic effects of tobacco use in residents of hilly areas and foot hills of Western Ghats, Southern India. *Sci Rep.* 2019;9(1):14898.
7. Torres-Bugarín, O., & Ramos-Ibarra, M. L. Utilidad de la prueba de micronúcleos y anomalías nucleares en células exfoliadas de mucosa oral en la evaluación de daño genotóxico y citotóxico. *Int J Morphol (Internet)*. 2013 (Ene 2021); 31(2): 650-657. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022013000200050>.
8. Souza DVD, Claudio SR, Da Silva CLF, Marangoni KP, Peres RC, Ribeiro DA. Genomic instability in peripheral blood and buccal mucosal cells of marijuana smokers: The impact of tobacco smoke. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2020;21(5):1235-9.
9. Carhuavilca, J. R. C. (2022). Prueba de micronúcleos en células bucales. Una revisión.

- Odontología Activa Revista Científica, 7(1), 37-44. DOI: <https://doi.org/10.31984/oactiva.v7i1.728>
10. Colchado Carhuavilca, J. R. (2019). Niveles de genotoxicidad en células de la mucosa bucal en correlación con la hiperglicemia aguda e hiperglicemia crónica en pacientes con diabetes mellitus tipo 2.
 11. Shaik, N. A., Shaik, J. P., Ali, S., Imran, A., & Rao, D. K. (2010). Increased frequency of micronuclei in diabetes mellitus patients using pioglitazone and glimepiride in combination. *Food and chemical toxicology*, 48(12), 3432-3435. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.09.016>
 12. Mahdiah Salimi, Behrouz Broumand, Hossein Mozdarani, Association of elevated frequency of micronuclei in peripheral blood lymphocytes of type 2 diabetes patients with nephropathy complications, *Mutagenesis*, Volume 31, Issue 6, November 2016, Pages 627–633, <https://doi.org/10.1093/mutage/gew029>
 13. Harishankar MK, Logeshwaran S, Sujeevan S, et al. Genotoxicity evaluation of metformin and glimepiride by micronucleus assay in exfoliated urothelial cells of type 2 diabetes mellitus patients. *Food Chem Toxicol.* 2015;83:146–150. doi: 10.1016/j.fct.2015.06.013
 14. Binici, D. N., Karaman, A., Coşkun, M., Oğlu, A. U., & Uçar, F. (2013). Genomic damage in patients with type-2 diabetes mellitus. *Genet Couns*, 24(2), 149-156.
 15. Shettigar SK, Shailaja C, Kulkarni RK. Elevated micronuclei frequency in type 2 diabetes with high glycosylated hemoglobin. *Diabetes Res Clin Pract.* 2012;95(2):246–250. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2011.10.025>
 16. Pappuswamy, M., Rajesh, N., & Philip, A. M. (2020). Analysis of chromosomal aberrations and micronuclei in type 2 diabetes mellitus patients. *Asian Pacific Journal of Cancer Biology*, 5 (1), 15-18. DOI 10.31557/APJCB.2020.5.1.15-18
 17. Quintero Ojeda, J. E., Aguilar-Medina, M., Olimón-Andalón, V., García Jau, R. A., Ayala Ham, A., Romero Quintana, J. G., ... & Ramos-Payán, R. (2018). Increased micronuclei frequency in oral and lingual epithelium of treated diabetes mellitus patients. *BioMed Research International*, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/4898153>
 18. Toljic, M., Egic, A., Munjas, J., Karadzov Orlic, N., Milovanovic, Z., Radenkovic, A. Joksic, I. (2017). Increased oxidative stress and cytokines-block micronucleus cytome assay parameters in pregnant women with gestational diabetes mellitus and gestational arterial hypertension. *Reproductive Toxicology*, 71, 55–62. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2017.04.002>
 19. Podrimaj-Bytyqi, A., Borovečki, A., Selimi, Q., Manxhuka-Kerliu, S., Gashi, G., & Elezaj, I. R. The frequencies of micronuclei, nucleoplasmic bridges and nuclear buds as biomarkers of genomic instability in patients with urothelial cell carcinoma. *Revista Scientific Reports (Internet)* 2018, (Enero 2021);8(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35903-5>.
 20. Zeegers, D., Venkatesan, S., Koh, S. W., Low, G. K., Srivastava, P., Sundaram, N., Sethu, S., Banerjee, B., Jayapal, M., Belyakov, O., Baskar, R., Balajee, A. S., & Hande, M. P. Biomarkers of Ionizing Radiation Exposure: A Multiparametric Approach. *Genome integrity*, *Revista Genome Integrity (Internet)*. 2017 (Enero 2021);8(6). Disponible en: <https://doi.org/10.4103/2041-9414.198911>.