

DEPARTAMENT DE PEDIATRIA, OBSTETRICIA I  
GINECOLOGIA

METABOLISMO OXIDATIVO EN NIÑOS Y  
ADOLESCENTES CON DIABETES MELLITUS  
INSULINODEPENDIENTE: MARCADORES PRECOCES DE  
DAÑO A MOLÉCULAS Y NEFROPATÍA DIABÉTICA  
INCIPIENTE

SARA PONS MORALES

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA  
Servei de Publicacions  
2008

Aquesta Tesi Doctoral va ser presentada a València el dia 12 de març de 2008 davant un tribunal format per:

- D. Juan Brines Solanes
- D. Antonio Carrascosa Vezcano
- D. Serafín Málaga Herrero
- D. Antonio Hernández Mijares
- D<sup>a</sup>. M<sup>a</sup> José López García

Va ser dirigida per:

D. Roberto Hernández Marco

©Copyright: Servei de Publicacions  
Sara Pons Morales

---

Depòsit legal:

I.S.B.N.:978-84-370-7123-7

Edita: Universitat de València  
Servei de Publicacions  
C/ Artes Gráficas, 13 bajo  
46010 València  
Spain  
Telèfon: 963864115

**DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA,  
OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA**



VNIVERSITAT ID VALÈNCIA

**METABOLISMO OXIDATIVO EN NIÑOS Y  
ADOLESCENTES CON DIABETES MELLITUS  
INSULINODEPENDIENTE: MARCADORES  
PRECOCES DE DAÑO A MOLÉCULAS Y  
NEFROPATÍA DIABÉTICA INCIPIENTE.**

TESIS DOCTORAL

Sara Pons Morales  
Valencia, 2007

**D. Roberto Hernández Marco**, Profesor Titular del Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología de la Universidad de Valencia y Jefe del Servicio de Pediatría del Hospital Universitario Dr. Peset de Valencia,

**D<sup>a</sup> Pilar Codoñer Franch**, Profesora Titular del Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología de la Universidad de Valencia. Sección de Nutrición, Gastroenterología y Hepatología Pediátrica, Hospital Universitario Dr. Peset de Valencia, y

**D<sup>a</sup> Victoria Valls Bellés**, Doctora en Bioquímica, Técnico Jefe del Laboratorio de Investigación del Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología

#### **CERTIFICAN**

Que **Sara Pons Morales**, Licenciada en Medicina y Cirugía, ha realizado bajo nuestra dirección la presente Tesis Doctoral titulada “**METABOLISMO OXIDATIVO EN NIÑOS Y ADOLESCENTES CON DIABETES MELLITUS INSULINODEPENDIENTE: MARCADORES PRECOCES DE DAÑO A MOLÉCULAS Y NEFROPATÍA DIABÉTICA INCIPIENTE**”.

Dicha Tesis está concluida y se considera apta para su lectura y defensa pública.

Fdo. Roberto Hernández Marco

Fdo. Pilar Codoñer Franch

Fdo. Victoria Valls Bellés

Valencia, Diciembre de 2007

# AGRADECIMIENTOS

Esta Tesis Doctoral, termina después de años de vicisitudes. En sus inicios, compaginada con el trabajo, y con el embarazo y posterior nacimiento de mi hijo Borja; a día de hoy quien más agradece que todo esto haya finalizado. Más tarde otros acontecimientos, ya olvidados, tuvieron lugar, apartándome temporalmente de mis quehaceres. Pero siempre he tenido el apoyo incondicional de los que me quieren y me aprecian, a todos ellos va dedicado este trabajo y en especial:

A Roberto Hernández Marco de quién nació la idea de esta tesis, ha confiado en mí a pesar de las muchas adversidades y gracias a su empeño, esfuerzo y dedicación personal ha sido posible la realización de la misma.

A Pilar Codoñer Franch por su estímulo y espíritu investigador y a Victoria Valls Bellés por formarme en las técnicas de laboratorio necesarias para la realización de esta tesis.

Al personal del laboratorio de Investigación del Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología de la Facultad de Medicina de Valencia por su ayuda desinteresada durante el período de realización de las técnicas de laboratorio.

Al personal de enfermería y auxiliar de clínica del Servicio de Pediatría del Hospital Universitario Dr. Peset de Valencia por su ayuda en la obtención y envío de muestras y por su aprecio, gracias por haber estado en los buenos y en los malos momentos.

A mis compañeros pediatras, que tanto me han enseñado y de los que tanto sigo aprendiendo cada día, por su cariño y su apoyo incondicional. No puedo olvidar a los médicos residentes de Pediatría que con sus dudas e inquietudes mantienen vivo nuestro espíritu de trabajo y superación.

Por último y no menos importantes, a Amparo por incondicional, a Salvador por ser mi referente, y a Nacho por su amistad y confianza desde los inicios.

***A Borja y Agustí, mi familia,  
por el tiempo que no les he dado***

***A mis padres, Paco y Pura,  
porque me lo han dado todo***

***A mis hermanos Paco y Jordi,  
por estar a mi lado...***

## **ABREVIATURAS**

**ADA:** Asociación Americana de Diabetes  
**AGE** Productos finales de la glicosilación  
**ARA2:** Antagonistas de los receptores del angiotensinógeno-2  
**CAD:** Cetoacidosis Diabética  
**CCr:** Aclaramiento de creatinina  
**DM 1:** Diabetes Mellitus tipo 1  
**EO:** Estrés Oxidativo  
**EUA:** Excreción urinaria de albúmina  
**FG:** Filtrado Glomerular  
**FPR:** Flujo Plasmático Renal  
**GPx:** Glutation Peroxidasa  
**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Peróxido de hidrógeno  
**HbA1c:** Hemoglobina Glicosilada  
**HF:** Hiperfiltración renal  
**HLA:** Antígeno Mayor de Histocompatibilidad  
**HTA:** Hipertensión arterial  
**IECA:** Inhibidor de la enzima convertidora de Angiotensina  
**IRC:** Insuficiencia Renal Crónica  
**IRT:** Insuficiencia Renal Terminal  
**MA:** Microalbuminuria  
**MDA:** Malondialdehído  
**NAC:** N-acetilcisteína  
**NAD:** Nicotamida Adenina  
**NADPH:** Nicotamida Adenina dinucleotido Fosfato  
**ND:** Nefropatía diabética  
**NFκB:** Factor kappa B nuclear  
**NO:** Oxido nitroso  
**O<sub>2</sub>:** Anión superóxido  
**OH:** Anión hidroxilo  
**PA:** Presión Arterial

**PAH:** Para amino hipurato

**PCK:** Protein-cinasa C

**RD:** Retinopatía diabética

**RLO:** Radicales libres de oxígeno

**SCr:** Creatinina plasmática

**SOD:** Superóxido Dismutasa

**TBARS:** Sustancias reactivas con el ácido tiobarbitúrico

**TFG:** Tasa de filtración glomerular

**TGF- $\beta$ :** Factor de crecimiento  $\beta$

**VEGF:** Factor de crecimiento del endotelio vascular

**Vit C:** Vitamina C

**Vit E:** Vitamina E



# ÍNDICE

<b>ÍNDICE.....</b>	<b>7</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>11</b>
<b>I.1. DIABETES MELLITUS.....</b>	<b>12</b>
I.1.1. GENERALIDADES.....	12
I.1.2. CRITERIOS DIAGNOSTICOS.....	15
I.1.3. DIABETES TIPO 1.....	16
I.1.3.1. EPIDEMIOLOGIA.....	16
I.1.3.2. PATOGENIA.....	17
I.1.3.3. FISIOPATOLOGIA.....	22
I.1.3.4. SINTOMATOLOGIA.....	24
I.1.3.5. TRATAMIENTO.....	26
I.1.3.6. COMPLICACIONES.....	28
<b>I. 2. NEFROPATÍA DIABÉTICA.....</b>	<b>31</b>
I.2.1 DEFINICIÓN.....	31
I.2.2. EPIDEMIOLOGÍA.....	32
I.2.3 ANATOMÍA PATOLÓGICA.....	34
I.2.4. PATOGENIA.....	36
I.2.4.1. Efectos metabólicos de la hiperglucemia.....	36
I.2.4.2. Genética de la nefropatía diabética.....	47
I.2.5. DIAGNÓSTICO.....	50
I.2.5.1. Microalbuminuria.....	51
I.2.5.2. Tensión arterial y nefropatía diabética.....	52
I.2.5.3. Hiperfiltración renal.....	54
I.2.5.4. Reserva funcional renal.....	56
I.2.5.5. Marcadores de disfunción tubular.....	57
I.2.5.6. Marcadores metabólicos.....	59
I.2.5.7. Otros marcadores.....	65
I.2.6. TRATAMIENTO DE LA NEFROPATIA DIABETICA INCIPIENTE.....	66
I.2.6.1. Recomendaciones actuales.....	66
I.2.6.2. Estrategias terapéuticas para reducir el estrés oxidativo en la nefropatía diabética.....	66
<b>II. HIPÓTESIS.....</b>	<b>73</b>

<b>III. OBJETIVOS .....</b>	<b>76</b>
<b>IV. METODOLOGÍA .....</b>	<b>78</b>
<b>IV.1. DISEÑO DEL ESTUDIO .....</b>	<b>79</b>
<b>IV.2. PACIENTES Y CONTROLES .....</b>	<b>79</b>
<b>IV.3. DISTRIBUCIÓN POR GRUPOS.....</b>	<b>80</b>
<b>IV.4. OBTENCIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y METABÓLICOS .....</b>	<b>81</b>
IV.4.1. Referidos al año previo al estudio.....	81
IV.4.2. En el momento del estudio.....	82
<b>IV.5. MÉTODOS ANALÍTICOS EN SANGRE Y ORINA .....</b>	<b>83</b>
<b>IV.6. PARÁMETROS BIOQUÍMICOS Y MÉTODOS ANALÍTICOS DEL ESTRÉS OXIDATIVO.....</b>	<b>85</b>
<b>IV.7. EVALUACIÓN DEL ESTADO NUTRICIONAL EN EL MOMENTO DEL ESTUDIO.....</b>	<b>88</b>
<b>IV.8. MÉTODOS ESTADÍSTICOS .....</b>	<b>89</b>
<b>V. RESULTADOS .....</b>	<b>90</b>
<b>V.1. CARACTERÍSTICAS DEL GRUPO CONTROL.....</b>	<b>91</b>
<b>V.2. CARACTERÍSTICAS DEL GRUPO DE NIÑOS CON DIABETES MELLITUS TIPO 1 ...</b>	<b>94</b>
<b>V.3. COMPARACIÓN DE VARIABLES CLÍNICAS Y METABÓLICAS ENTRE EL GRUPO CONTROL Y EL DE DIABETES MELLITUS TIPO 1.....</b>	<b>99</b>
V.3.1. Variables clínicas.....	99
V.3.2. Variables bioquímicas sanguíneas.....	101
V.3.3. Índices de función renal.....	103
V.3.4. Variables de estrés oxidativo.....	104
<b>V.4. CORRELACIÓN ENTRE LAS VARIABLES .....</b>	<b>107</b>
<b>V.5. COMPARACIÓN ENTRE LOS GRUPOS. ....</b>	<b>111</b>
V.5.1 Comparación de variables clínicas y metabólicas entre el grupo control y el de DM 1 en función del grado de control metabólico (Grupos 1-3).....	111
V.5.2 Comparación de variables clínicas y metabólicas entre el grupo control y el grupo de DM 1 en función de la presencia o no de hiperfiltración.....	119
<b>VI. DISCUSIÓN.....</b>	<b>133</b>
<b>VI. 1. PACIENTES Y GRUPO CONTROL.....</b>	<b>134</b>
<b>VI. 2. ESTRÉS OXIDATIVO Y DIABETES.....</b>	<b>138</b>
<b>VI.3. HIPERFILTRACIÓN RENAL Y ESTRÉS OXIDATIVO.....</b>	<b>143</b>
<b>VI.4. PAUTA PARA LA DETECCIÓN PRECOZ DE LA NEFROPATIA DIABETICA. ....</b>	<b>156</b>

<b>VII. CONCLUSIONES.....</b>	<b>159</b>
<b>VIII. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>163</b>
<b>IX. ANEXOS .....</b>	<b>204</b>
<b>ANEXO 1. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS, CLÍNICAS Y PARÁMETROS METABÓLICOS, DE FUNCIONALISMO RENAL Y DEL ESTRÉS OXIDATIVO DE LOS NIÑOS DEL GRUPO CONTROL. ....</b>	<b>205</b>
<b>ANEXO 2A. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS Y CLÍNICAS DEL GRUPO DE NIÑOS Y ADOLESCENTES DM 1.....</b>	<b>206</b>
<b>ANEXO 2B. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS Y CLÍNICAS DEL GRUPO DE NIÑOS Y ADOLESCENTES DM 1.....</b>	<b>207</b>
<b>ANEXO 3. HOJA DE RECOGIDA DE DATOS.....</b>	<b>208</b>

# **I. INTRODUCCIÓN**

## **I. INTRODUCCIÓN**

### **I.1. DIABETES MELLITUS**

#### **I.1.1. GENERALIDADES**

La diabetes es un síndrome metabólico caracterizado por hiperglucemia, debida a una deficiencia en la secreción o acción de la insulina, o ambas causas a la vez, y que provoca alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono, las proteínas y las grasas (3, 292, 335).

Los diferentes tipos de diabetes mellitus varían en su etiología, clínica, criterios diagnósticos, pronóstico y tratamiento. En 1995 se creó un Comité Internacional de Expertos de la OMS (378), que bajo los auspicios de la Asociación Americana de Diabetes (ADA), propuso una clasificación basada en criterios etiológicos y que comprende cuatro grupos principales: diabetes mellitus tipo 1 (DM 1), diabetes mellitus tipo 2, “otros tipos específicos de diabetes” y diabetes mellitus gestacional (tabla 1) (5, 347, 348).

<b>Tabla 1. Clasificación etiológica de la diabetes mellitus</b>
I. Diabetes tipo 1 (destrucción de células $\beta$ ) a. Inmune b. Idiopática
II. Diabetes mellitus tipo 2
III. Otros tipos específicos de diabetes 1. Anomalías genéticas de la función de la célula $\beta$ 2. Alteraciones genéticas en la acción de la insulina 3. Enfermedades del páncreas exocrino 4. Endocrinopatías 5. Inducida por fármacos o agentes químicos 6. Secundaria a infecciones 7. Formas poco frecuentes de diabetes inmunomediadas 8. Otros síndromes genéticos a veces asociados con diabetes
IV. Diabetes gestacional

La DM 1, se debe a la destrucción de las células  $\beta$ , lo que conduce a un déficit progresivo de insulina y a la dependencia de la insulina exógena para evitar la cetosis y conservar la vida; según su etiología, se distinguen dos subtipos: 1a, en el que el mecanismo causal es la destrucción autoinmune, y 1b, en el que el mecanismo causal es desconocido.

Diabetes tipo 1a: conocida previamente como insulino dependiente o DMID (por requerir insulina para su tratamiento) y también como diabetes mellitus infantojuvenil (por comenzar típicamente en el niño o en el adolescente). En la actualidad estos términos se consideran inadecuados, ya que cualquier tipo de diabetes puede requerir en algún momento insulina y, además, porque este tipo de diabetes puede aparecer a cualquier edad, incluso en la vejez.

Diversos datos señalan su patogenia autoinmune. En el comienzo de la enfermedad pueden evidenciarse anticuerpos frente a antígenos de la célula pancreática; tiene una fuerte asociación con diferentes especificidades del sistema HLA, y tanto los pacientes como sus familiares próximos tienen un riesgo aumentado de padecer otras afecciones autoinmunes como la enfermedad de Graves, tiroiditis linfocitaria crónica, enfermedad de Addison, vitiligo y anemia perniciosa.

Las personas con DM 1 se enfrentan a la necesidad absoluta y diaria de insulina exógena, efectuar su propio control metabólico y prestar una atención constante a la dieta y a un ejercicio físico reglado, condicionando su modo de vida. En cuanto a la morbilidad y la mortalidad derivan tanto de las alteraciones metabólicas como de las diversas complicaciones tardías, que afectan a los pequeños y grandes vasos y que ocasionan retinopatía, nefropatía, neuropatía, cardiopatía isquémica y obstrucción arterial con gangrena de las extremidades.

Diabetes tipo 1b: denominada “diabetes idiopática” por ser de etiología desconocida. Este tipo de diabetes, al igual que la anterior, se debe a una reducción de la masa de células  $\beta$  pero no hay evidencia de autoinmunidad ni está asociada al HLA. La enfermedad aparece preferentemente en personas de origen africano y

asiático y las manifestaciones clínicas son semejantes a las de la DM 1, con cuadros de cetosis por insulinopenia, aunque en los pacientes la dependencia absoluta a la insulina puede ser fluctuante.



### I.1.2. CRITERIOS DIAGNOSTICOS

Para el diagnóstico de diabetes (3, 292, 335, 347, 348) se recurre a la determinación de la glucemia en ayunas, que se realiza generalmente en plasma venoso y debe ser cuantificada con métodos analíticos de glucosa verdadera. Habitualmente, se hace por la mañana tras un período de ayuno superior a 8 horas. Los valores normales máximos de glucemia en niños son 110 mg/dl (6,1 mmol/l) en plasma de sangre venosa o 97 mg/dl (5,3 mmol/l) si se trata de sangre capilar o venosa (tabla 2).

<b>Tabla 2. Criterios de laboratorio para el diagnóstico de diabetes mellitus y de alteraciones de la homeostasis glucídica</b>
Normalidad Glucemia en ayunas inferior a 110 mg/dl y glucemia a las 2 horas de efectuar sobrecarga oral de glucosa (SOG) inferior a 140 mg/dl
Alteración de la glucemia en ayunas (AGA) Glucemia en ayunas entre 110 y 126 mg/dl (6,1-7,0 mmol/l)
Alteración de la tolerancia a la glucosa (ATG) Glucemia en ayunas entre 110-126 mg/dl y además glucemia a las dos horas de efectuar (SOG) entre 140-200 mg/dl (7,75-11,1 mmol/l)
Diabetes mellitus Hallazgo en 2 días distintos de alteración en cualquiera de los siguientes tests (cualquier combinación es aceptada) Existencia de síntomas clásicos de diabetes mellitus (polidipsia, poliuria, pérdida de peso), más glucemia al azar >200 mg/dl (11,1 mmol/l) Glucemia en ayunas > 126 mg/dl (>7,0 mmol/l) Glucemia a las 2 horas de realización de un test de SOG > 200 mg/dl (11,1 mmol/l)

### **I.1.3. DIABETES TIPO 1**

#### **I.1.3.1. EPIDEMIOLOGIA**

Es el trastorno endocrino-metabólico más frecuente de la infancia y la adolescencia, con importantes secuelas para el desarrollo físico y emocional. En la juventud es una de las primeras causas de enfermedad crónica (16, 201, 289, 334).

Su incidencia anual es variable, estimándose en España de 11/100.000 habitantes en el grupo de 0 a 14 años. A nivel mundial se observa una amplia heterogeneidad geográfica y racial, señalándose una incidencia relativamente alta en países lejanos al ecuador terráqueo, intermedia en países situados entre el ecuador y los polos, y baja en los países próximos al mismo. En cuanto a diferencias raciales, los caucásicos tienen en general mayor predisposición que los negros, orientales o judíos.

Su prevalencia, muestra la misma heterogeneidad que su incidencia y en España se ha encontrado próxima al 1/1.000 en el grupo de niños de 0 a 14 años.

En cuanto a la edad de inicio, las  $\frac{3}{4}$  partes de los pacientes se diagnostican antes de los 18 años. Algunos autores señalan un “pico” entre los 5 y 9 años y otros hacia los 11 y 14 años. Es raro que la enfermedad comience el primer año de vida. Se calcula que el 5% de la población diabética son niños y adolescentes.

En cuanto al sexo, existen pocas diferencias, aunque algunos autores señalan un ligero predominio de varones (1,1-1,2:1)

La enfermedad comienza preferentemente en los meses fríos del año. Esta incidencia estacional sugirió que infecciones virales, en general más frecuentes en ésta época del año, podrían ser la causa inmediata de la enfermedad, pero desde que se conoce la naturaleza autoinmune de la diabetes y que la reducción de la producción de insulina se inicia años antes de su comienzo clínico, a las infecciones virales no se les puede atribuir otro papel que el de meros desencadenantes de una situación metabólica inestable ya próxima a manifestarse clínicamente.

### **I.1.3.2. PATOGENIA**

La hipótesis más aceptada postula, que sobre una persona genéticamente predispuesta actúa un factor desencadenante desconocido, que provoca una respuesta autoinmune que destruye selectiva y progresivamente a las células beta pancreáticas y en consecuencia disminuye de forma progresiva la capacidad de producir insulina. Llega un momento en que aparece hiperglucemia en ayunas y, posteriormente, los síntomas de la diabetes. A la larga aparecen complicaciones que tienen relación con la persistencia del trastorno metabólico. Se atribuye a Eisenbarth la descripción de 6 estadios en el desarrollo de la enfermedad (292, 334, 335):

#### **Estadio I. Predisposición genética:**

Existe una clara asociación familiar. El 10-15% de los niños diabéticos tienen un familiar de primer grado afecto de diabetes y existe concordancia en aproximadamente el 30-35% de las parejas de gemelos homocigotos. Cuando uno de los padres es diabético, el riesgo de que los hijos padezcan diabetes antes de los 30 años es elevado; cuando el enfermo es el padre, el riesgo es el triple que cuando lo es la madre (7 y 2% respectivamente) y el riesgo es máximo cuando ambos padres son diabéticos (30%). El riesgo entre hermanos es próximo al 7%.

Existe una susceptibilidad individual de herencia poligénica en la que los genes que regulan la síntesis de las moléculas de la clase II del sistema de histocompatibilidad desempeñan un papel importante. Hay una clara asociación con los haplotipos HLA DR3 y/o DR4, marcadores genéticos más clásicos que están presentes en aproximadamente el 95% de las personas caucásicas diabéticas, porcentaje superior al de la población general. Hay una asociación más notoria aún con determinados alelos DQ, especialmente con algunos alelos DQB1. El mecanismo de actuación de los genes del sistema HLA en la diabetes parece estar relacionado con la síntesis de las proteínas que presentan los autoantígenos al sistema inmune. La secuencia de aminoácidos en las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  de la molécula DQ está altamente relacionada con la predisposición a la diabetes. La ausencia de ácido aspártico en la posición 57 de la cadena  $\beta$  y su sustitución por otro aminoácido como serina, alanina

o valina confiere un gran riesgo. A nivel mundial, se ha descrito una correlación lineal entre la frecuencia del gen DB 57 no aspártico y la incidencia anual de diabetes. Por otra parte, se ha comprobado también que el residuo existente en la posición 52 de la cadena  $\alpha$  desempeña una función crítica en la susceptibilidad/protección, de modo que la presencia de arginina predispondría a diabetes mientras que la de otros aminoácidos, como serina o alanina, tendría un papel protector. Si se considera que las moléculas DQ son fundamentales para presentar los antígenos a los linfocitos T auxiliares, se comprende que la presencia o ausencia de un aminoácido en posiciones críticas de las cadenas  $\alpha$  o  $\beta$  de estas moléculas que altera la estructura terciaria de la cavidad u horquilla de Bjorkman, resulte determinante en su capacidad para presentar adecuadamente los antígenos al sistema inmune.

#### **Estadio II.** Factor desencadenante:

La predisposición genética puede durar o no toda la vida, ello depende de que sobrevengan uno o varios factores ambientales, que desencadenen el proceso autoinmune. La existencia de estos factores ha sido muy cuestionada, pero diversos datos epidemiológicos señalan que probablemente existen: aunque aproximadamente el 50% de los caucásicos son DR3 y/o DR4, sólo el 0,3% desarrollan diabetes; en gemelos univitelinos la concordancia no llega al 50%; cuando personas de grupo étnico bien definido emigran a un país con incidencia mayor de diabetes, al cabo de unos años, aumenta en ellas la incidencia de diabetes; a veces surgen auténticas “epidemias” de la enfermedad que, dado el corto espacio de tiempo en que se han producido, no se puede atribuir a cambios en la predisposición genética; finalmente, se ha apreciado un aumento progresivo de la incidencia, año tras año, en países europeos que no puede ser atribuido en su totalidad a factores genéticos. Como factores desencadenantes se han considerado, infecciones víricas (virus Coxsackie, virus de la rubeola, citomegalovirus), factores dietéticos y otros factores como algunas sustancias químicas (estreptozotocina, alloxan, nitrosaminas).

### **Estadio III:** Respuesta autoinmune activa frente a las células beta:

1. Pérdida de la tolerancia inmunológica: en la diabetes mellitus tipo 1a se pierde la tolerancia inmunológica normal a determinados antígenos de la célula  $\beta$ ; se produce activación de células T autorreactivas a estos antígenos, y la supresión de células T reguladoras; la consecuencia es un proceso inflamatorio autoinmune en el páncreas con infiltración de macrófagos y células T (“insulitis”) que, directamente o a través de citoquinas, conducen a la destrucción de las células  $\beta$ . La causa de ese trastorno de la inmunorregulación es aún desconocida.

2. Posibles antígenos: tras el factor desencadenante, uno o varios componentes de la célula beta se modificarían y se convertirían en autoantígenos. La presencia de autoanticuerpos circulantes que reconocen a estos autoantígenos ha permitido su identificación, de todos ellos los reconocidos como autoantígenos ciertos son: insulina (ICA), antiislote (ICA), decarboxilasa ácido glutámico (GAD<sub>65</sub>), o bien, antígenos propios adquieren el carácter de autoantígeno cuando el sistema inmune reacciona contra un antígeno exógeno que tiene similitud estructural con ellos. A este mecanismo inmunogénico se llama de “mimetismo molecular” y se ha señalado entre el antígeno retroviral p79 y la insulina, el antígeno P2-C de los virus Coxsackie y el GAD y entre la proteína ABBOS de la leche de vaca y el péptido 69 kDa de la superficie de la célula  $\beta$  pancreática.

3. Presentación de autoantígenos y reconocimiento por el sistema inmune, formándose un complejo trimolecular compuesto por el antígeno procesado, las moléculas HLA y el receptor T del linfocito auxiliar.

4. Respuesta del sistema inmune. Tras el reconocimiento de la molécula antigénica por el receptor T de los linfocitos, se activa una reacción en cascada en la que se desarrolla una expansión de clones linfocitarios específicos del antígeno, seguidos de proliferación y diferenciación de linfocitos T citotóxicos, posiblemente causantes de la destrucción de las células beta (respuesta celular) y una proliferación de células plasmáticas productoras de inmunoglobulinas específicas (respuesta humoral).

a. Respuesta humoral: los anticuerpos con mayor interés clínico son los antiislotos (ICA), los antiinsulina (IAA) y los anti 64 kD (o anti-GAD), su detección es muy útil como “marcadores de riesgo” puesto que aparecen antes del comienzo clínico de la enfermedad.

5. Destrucción de las células beta, producida por los linfocitos T citotóxicos y los linfocitos natural killer (NK) y participación de citocinas liberadas por estas células y por los macrófagos activados, particularmente, la interleucina IL-1, el factor de necrosis tisular y sobre todo los RLO: aniones hidroxílicos (OH), superóxido (O<sub>2</sub>), peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y óxido nitroso (NO). Los RLO proceden no sólo de los macrófagos que infiltran los islotes, sino que también pueden proceder de las propias células beta al ser estimuladas por las citocinas. La toxicidad de los RLO se debe a su acción oxidativa, que altera diversos enzimas citoplasmáticos y de la membrana celular y a que fragmenta el ADN; esta rotura activaría la enzima reparadora del ADN, la poliADP ribosa sintetasa, que utiliza el NAD como sustrato. Esta depleción de NAD intracelular, causa inhibición de la síntesis proteica y conduce a la muerte de la célula beta.

#### **Estadio IV.** Reducción de la masa de células beta:

El estudio histológico del páncreas en los pacientes recién diagnosticados muestra la existencia de una inflamación aguda o “insulitis”. Los linfocitos que infiltran los islotes son predominantemente de tipo auxiliar y citotóxico de tipo activo, como lo demuestra la presencia en su superficie de antígenos de clase II. La presencia de estas células junto a la penetración de la IgG en las células beta y la deposición local de complemento sugieren que la insulitis es de mecanismo autoinmune. Cuando se diagnostica la enfermedad, la destrucción de las células beta es tal que sólo queda un 10% de la masa de células beta normal. La reducción de la masa de células beta funcionante disminuye lógicamente de forma paralela la capacidad de producir insulina y como consecuencia acaba alterándose el metabolismo hidrogenado.

#### **Estadio V.** Diabetes clínica con secreción residual de insulina:

La progresiva reducción de la insulina determina hiperglucemia, inicialmente sólo postprandial, que pronto se hace permanente. Cuando el nivel de glucemia supera el dintel de reabsorción del túbulo renal aparece glucosuria y como consecuencia poliuria y polidipsia. Con frecuencia existe un factor desencadenante de esta situación, (infección aguda, traumatismo, estrés psíquico, etc.) que no es la causa, sino el factor que descompensa una situación metabólica límite. Cuando la enfermedad se inicia, se puede comprobar que el nivel de hemoglobina glicosilada (HbA1c) está muy elevado, 14% o más, lo que indica que hace tiempo existía la hiperglucemia.

Cuando el paciente es diagnosticado, se puede comprobar que el páncreas conserva aún capacidad de producir insulina, pero que ésta es limitada, pues no sobrepasa el 20% de lo normal. En un paciente diabético ya diagnosticado y que está recibiendo insulina, el parámetro más útil para valorar su reserva pancreática es determinar el nivel de péptido C en plasma o en orina, bien en condiciones basales o tras diversos estímulos.

#### **Estadio VI.** Diabetes clínica sin secreción residual de insulina:

Al cabo de dos-tres años, en la mayoría de niños diabéticos, las células beta del páncreas desaparecen y lógicamente también la capacidad de producir insulina. En esta fase, que ya durará toda la vida, el péptido C es prácticamente indetectable en plasma y en orina. El paciente depende exclusivamente de la insulina exógena, por lo que aumentan las necesidades diarias de insulina y son más frecuentes las descompensaciones.

### **I.1.3.3. FISIOPATOLOGIA**

La carencia de insulina conduce a un estado catabólico en el cual el organismo no puede utilizar los substratos energéticos, sean exógenos u endógenos, y quema sus reservas hidrocarbonadas, grasas y proteicas. Catabolismo inútil, porque el organismo no puede utilizar los productos del mismo, que acaban perdiéndose por la orina.

La carencia de insulina es el punto de partida. Se producen alteraciones metabólicas que tienen luego su traducción clínica:

A nivel del metabolismo hidrocarbonado se reduce la captación y utilización de glucosa por los tejidos periféricos y aumenta la producción de glucosa por el hígado. Se produce, por tanto, intensa hiperglucemia, y cuando se supera la capacidad de reabsorción tubular aparece glucosuria, que a través de un mecanismo osmótico ocasiona la pérdida de agua y electrolitos. La consecuencia clínica de la hiperglucemia será el cansancio (falta de glucosa intracelular), pero la intensa glucosuria produce poliuria, polidipsia y pérdida de peso, síntomas iniciales constantes de la diabetes.

A nivel del metabolismo de los lípidos aumenta la lipólisis y se reduce la lipogénesis. Por otra parte, se reduce el aclaramiento plasmático de las lipoproteínas y en el hígado aumenta la cetogénesis. Las consecuencias clínicas son varias: el paciente adelgaza, la hiperlipemia puede conducir a aparición de xantomas cutáneos, y la cetosis es causa de trastornos digestivos (náuseas, vómitos, dolor abdominal, feto acetonémico), respiratorios (respiración acidótica de Kussmaull), nerviosos (depresión del SNC) y circulatorios (alteración de la contractilidad cardíaca, HTA).

A nivel del metabolismo de las proteínas se reduce la captación de aminoácidos por las células. Se reduce la síntesis proteica y aumenta la proteólisis. Todo ello provoca un balance nitrogenado negativo con aumento en plasma y en



orina del nitrógeno ureico. Las consecuencias clínicas son la disminución de la masa muscular, la astenia y la pérdida de peso.

A nivel del equilibrio ácido-base la carencia de insulina induce acidosis. El factor inicialmente más importante es el aumento de ácidos cetónicos por el hígado y la disminución del consumo de los mismos por los tejidos periféricos. La consecuencia clínica más evidente es la polipnea con hiperpnea.

En cuanto al metabolismo hídrico, se producen pérdidas de agua debidas fundamentalmente a la poliuria, y como en toda diuresis osmótica la pérdida de agua es mayor que la de electrolitos, tendiendo a aparecer deshidratación hipertónica. La poliuria se intenta compensar con la polidipsia. Cuando la diabetes se descompensa aumentan las pérdidas de agua por aumento de las pérdidas insensibles por respiración y piel, la hipertermia y los vómitos. Las consecuencias clínicas son las propias de la deshidratación: sequedad de piel y mucosas, sed, etc., y en casos extremos hipotensión, taquicardia y finalmente shock.

#### **I.1.3.4. SINTOMATOLOGIA**

En la descripción de la clínica de la DM 1 se pueden considerar tres estadios (292, 335):

##### **Estadio 1.** Debut de la enfermedad

a. Forma típica: En la edad pediátrica la historia clínica que precede al diagnóstico es breve, 2 ó 3 semanas. El cuadro clínico es muy constante y los síntomas iniciales son la poliuria y polidipsia junto a pérdida de peso en un plazo de tiempo no superior al mes. En algunos pacientes, la nicturia o la enuresis secundaria pueden llamar la atención antes de que se haya reparado en la poliuria. La polifagia, frecuente en el adulto, suele faltar en los niños, pues en éste la frecuente y precoz cetosis, ocasiona anorexia. En las adolescentes, es frecuente que exista prurito vulvar por la existencia de una moniliasis. A veces, una infección aguda y febril, con frecuencia banal, coincide con el inicio de la clínica. Al hacer el diagnóstico la mayoría de niños presenta intensa glucosuria y cetonuria, es decir, se encuentran ya en situación cetoacidótica.

b. Forma cetoacidótica grave: en el 10-30% de los pacientes, cuando se hace el diagnóstico, se encuentran en coma cetoacidótico más o menos profundo. Se ha señalado que en pacientes con haplotipo HLA-DR4 esta forma de inicio es más frecuente. La anamnesis revela que en las semanas previas ya estaban presentes síntomas descritos en la forma típica, pero éstos no habían sido valorados adecuadamente.

c. Hiperglucemia moderada asintomática, detectada casualmente en un examen analítico rutinario o en el estudio de familiares de pacientes diabéticos. Es una forma excepcional, ya que normalmente transcurre un espacio de tiempo muy corto desde que surge la hiperglucemia y la enfermedad se manifiesta clínicamente.

## **Estadio 2.** Remisión clínica

Cuando se hace el diagnóstico, las necesidades diarias de insulina son elevadas, pero una vez iniciado el tratamiento y conseguida la desaparición de la cetosis y la reducción de la hiperglucemia, las necesidades de insulina disminuyen. Este período que sigue al inicio y que se caracteriza por unas necesidades reducidas o incluso nulas de insulina con valores de glucemia prácticamente normales y con glucosuria negativa, se conoce como “período de luna de miel” y se debe a una recuperación de insulina del páncreas. Esta situación es siempre transitoria, dura de semanas a meses y generalmente menos de 2 años.

## **Estadio 3.** Recaída y diabetes total

Poco a poco, pero a veces bruscamente, aumentan las necesidades de insulina, de tal forma que al cabo de 3-4 años la dosis necesaria de insulina es de 1-1,2 UI/kg/día. La sintomatología depende del grado de control metabólico que se alcance. Cuando el control es bueno y la glucemia se mantiene sin grandes oscilaciones entre 70 y 200 mg/dl no existe prácticamente ningún síntoma.

### **I.1.3.5. TRATAMIENTO**

El tratamiento actual de la diabetes ha supuesto un aumento notable en la esperanza de vida del paciente (23, 63, 94, 249, 335, 346). Los mayores cambios en el tratamiento de la diabetes en las últimas décadas incluyen: la introducción de las insulinas humanas, la monitorización domiciliaria de la glucosa, la capacidad de medir hemoglobinas glicosiladas como parámetro fiable de control metabólico a largo plazo, el desarrollo de equipos diabetológicos de apoyo y educación, y la idea fundamental de transferir progresivamente la responsabilidad del cuidado directo de la diabetes a la familia.

En el tratamiento actual de la diabetes hay que considerar, además de los elementos clásicos: insulina, dieta y ejercicio, el autocontrol, al cual sólo puede llegarse mediante una educación diabetológica intensa.

Los objetivos del tratamiento son:

- Permitir al niño llevar una vida prácticamente normal, con ausencia de sintomatología y de complicaciones agudas de su enfermedad
- Garantizar un desarrollo somático y psíquico normal e impedir en lo posible la aparición de complicaciones crónicas micro y macrovasculares
- Conseguir la normogluemia, demostrada la relación entre la aparición de las complicaciones y el mal control metabólico

Los resultados del estudio prospectivo realizado en Estados Unidos y Canadá (94, 95, 346) sobre la influencia del control glucémico en la aparición de las complicaciones microvasculares en la DM 1 realizado en adolescentes y adultos (DCCT) demostraron que el tratamiento intensivo que permite un control estricto de la glucemia, disminuye el riesgo a largo plazo de las complicaciones crónicas de la diabetes.

La diabetes mellitus insulino dependiente es una enfermedad que cursa con déficit de insulina, por lo que es imprescindible la terapéutica sustitutiva con esta

hormona. Aunque constituye una de las facetas fundamentales del tratamiento, su utilización debe estar coordinada simultáneamente con los cuidados alimentarios, el ejercicio físico y, muy especialmente, con el autocontrol, para conseguir el mejor control metabólico de la enfermedad. El éxito de cualquier forma de insulino terapia estará más en dependencia con la monitorización de la glucosa, calidad de educación del diabético y contacto estricto entre el paciente y su médico, que de las normas o métodos empleados en su administración.

### **I.1.3.6. COMPLICACIONES**

La evolución de la diabetes mellitus viene caracterizada por una serie de complicaciones agudas, como son la hipoglucemia y la cetoacidosis, y otras de presentación a largo plazo, que en su sintomatología clínica van a ser propias del adulto, pero que en sus aspectos de prevención primaria competen directamente al niño y adolescente (197, 341, 343). Estas complicaciones van a ser de tipo vascular, y en la infancia y adolescencia, lo que predomina fundamentalmente es la microangiopatía (41, 77, 86, 87, 129, 189, 268, 269). Aunque puede afectar a todo el lecho vascular, sus principales manifestaciones se derivan de su localización en tres órganos o sistemas, condicionando la retinopatía, la neuropatía y la nefropatía diabéticas.

#### **-Retinopatía diabética.**

El término de retinopatía diabética (RD) engloba todas las anomalías funcionales y lesiones estructurales que aparecen en la retina del diabético a lo largo de la evolución de la enfermedad (161, 170, 248, 285). Constituye la complicación crónica más frecuente y la mayor causa de ceguera en países desarrollados (263). La existencia de lesiones retinianas se relaciona estrechamente con la duración de la enfermedad, de tal manera que, tras 10 años de evolución, aproximadamente el 50% de pacientes, tienen algún grado de retinopatía. En estudios realizados directamente en poblaciones de niños y adolescentes, se pone de manifiesto una estrecha relación con el tiempo de evolución diabética y/o edad del paciente. Por lo general no suele aparecer antes de los 3-5 años de evolución y/o con edad inferior a 15 años. Otros factores relacionados con la aparición de retinopatía son el grado de control metabólico, la pubertad, el sexo, la presión arterial y determinada carga genética.

En estudios de amplias cohortes de pacientes diabéticos, tanto los valores basales de glucemia como el control glucémico a largo plazo, se han encontrado asociados con el riesgo de desarrollo y ulterior progresión de la retinopatía diabética. Aunque la hiperglucemia se encuentra asociada con un mayor riesgo de desarrollo y progresión de la retinopatía diabética a cualquier edad, su impacto sobre el riesgo de progresión hacia la retinopatía proliferativa es el más importante.

Los pacientes en los que la enfermedad se inicia clínicamente durante el desarrollo puberal, o después de su finalización, presentan un tiempo medio significativamente más corto hasta que se produce el desarrollo de la retinopatía no proliferativa, comparado con los sujetos en los que la diabetes mellitus se inició en la edad prepuberal

#### -Neuropatía diabética.

En la actualidad se acepta que la neuropatía diabética se divide fundamentalmente en 3 categorías: 1) Neuropatía autonómica; 2) Neuropatía de nervios periféricos, y 3) Patología del sistema nervioso central.

1) La neuropatía autonómica diabética se define como una alteración en la función del sistema nervioso autonómico periférico, asociada con un incremento en la mortalidad debido a enfermedad vascular y muerte súbita.

2) Cuando el diagnóstico de neuropatía periférica diabética se basa en la disminución de la velocidad de conducción nerviosa, el porcentaje de niños o jóvenes afectados con más de 5 años de evolución de la diabetes, oscila alrededor del 25-30%.

3) La patología del SNC es consecuencia de un control metabólico inadecuado relacionado con cambios en la vía de los polioles, estrés oxidativo, glicosilación proteica no enzimática y disfunción endotelial, que conduce a una reducción del flujo sanguíneo neural, alteraciones en la homeostasis del calcio y déficit de factores neurotróficos.

Se han efectuado diferentes estudios investigando la existencia de cambios electroencefalográficos en niños con DM 1 en los que el comienzo de la enfermedad se produce por debajo de los 5 años de edad, pero hasta la fecha, no ha podido establecerse una relación clara entre la duración de la enfermedad y posibles alteraciones electroencefalográficas.

-Nefropatía diabética.

La nefropatía como complicación asociada a la diabetes mellitus forma parte del objetivo de este trabajo por lo que se desarrolla en un epígrafe aparte.



## **I. 2. NEFROPATÍA DIABÉTICA**

### **I.2.1 DEFINICIÓN**

La nefropatía diabética (ND) debe ser considerada como una entidad clínica, con diversos aspectos funcionales y morfológicos propios. Se caracteriza por una pérdida progresiva de la función renal que se manifiesta por síntomas y alteraciones bioquímicas propias del fracaso renal crónico, junto a otras manifestaciones sistémicas y urinarias, principalmente hipertensión arterial (HTA) y proteinuria (4, 73, 106, 118, 186, 209, 253, 339).

Según la descripción ya clásica de Mogensen, la ND es una enfermedad progresiva de la que se reconocen 5 estadios evolutivos, de acuerdo con el grado de cambios en la función y morfología renal (235):

**Estadio I.** Se inicia con el debut de la enfermedad y se mantiene durante los primeros 3 años, íntimamente relacionada con el control glicémico. Se caracteriza por hiperfiltración renal (HF), sin HTA ni otras alteraciones urinarias. No hay evidencias de lesiones histológicas en el glomérulo o en estructuras vasculares.

**Estadio II.** Aparece entre los 2 y 5 años de evolución y se caracteriza por la persistencia de la HF junto a microalbuminuria (MA) transitoria y nefromegalia, identificable por ecografía en aproximadamente el 20 % de los pacientes.

**Estadio III o nefropatía incipiente.** Se presenta a los 10-15 años del debut diabético, pero sólo en el 35 % de los pacientes. Está definida por MA persistente > 30 mg/día (20 µg/min) y < 300 mg/día (200 µg/min) en dos o tres muestras consecutivas, filtrado glomerular (FG) normal o elevado e HTA (40 % de los casos). Este estadio identifica a los pacientes con riesgo de desarrollar ND. En adultos la MA es un marcador precoz de ND (80 % de los pacientes que presentan MA > 50 mg/día desarrollarán ND), pero queda por demostrar esta relación en niños y adolescentes.

**Estadio IV o nefropatía clínica.** Se establece después de 15 a 25 años de evolución de la diabetes y tras 5-8 años de MA. Está definida por proteinuria persistentemente elevada >300 mg/día (200 µg/min) asociada a disminución progresiva del FG que se ha estimado en 10-12 ml/min por mes y a HTA en el 85 % de los pacientes.

**Estadio V o de IR terminal,** con proteinuria nefrótica e HTA, se produce tras 25-30 años de evolución de la diabetes.

### **1.2.2. EPIDEMIOLOGÍA**

En los países desarrollados, la ND es no sólo la principal causa de insuficiencia renal crónica (IRC) sino la que ha tenido un incremento más acelerado en las dos últimas décadas. En algunos países como EE.UU. más del 35% de los pacientes en diálisis son diabéticos (288). El gran incremento de pacientes diabéticos en programas de tratamiento renal sustitutivo se debe al incremento de pacientes con diabetes tipo 2, mientras que la incidencia de nefropatía en los pacientes con DM 1 tiende a estabilizarse, hecho que se asocia al mejor conocimiento y control de la diabetes. En la actualidad, la ND es la causa más frecuente de hemodiálisis en pacientes adultos de países industrializados, con importante repercusión en su salud y calidad de vida, produciendo además costes sanitarios elevados. Constituye una complicación específica de la enfermedad y está asociada a un alto índice de mortalidad (83, 94, 130, 133, 298).

En España, la prevalencia de diabetes entre los pacientes con IRC es del 20%, siendo en un 85% de los casos pacientes con diabetes tipo 2.

Se estima que, aproximadamente el 30-50 % de todos los pacientes con DM 1 desarrollarán enfermedad renal entre 5 y 15 años después del inicio de la diabetes, pero llegado este momento, la progresión irreversible hacia la insuficiencia renal sería rápida, entre 2-7 años. Debe destacarse que pacientes que no han desarrollado

proteinuria tras 20-25 años de evolución de la diabetes, tienen un riesgo muy bajo de desarrollar enfermedad renal, aproximadamente del 1% (151, 187).

Las conclusiones del estudio DCCT demuestran que el control glicémico estricto (insulinoterapia intensiva) y la casi normalización de la hemoglobina glicosilada (HbA1c < 7,5%) disminuyen en un 43% el riesgo de aparición de MA y en un 56% el de ND clínica (94, 95, 384).

En adultos, establecida la nefropatía, son predictores de su progresión la excreción urinaria de albúmina (EUA) basal, la presión arterial (PA) y el sexo masculino, mientras que ya no lo es la HbA1c. El tratamiento antihipertensivo agresivo puede inducir la remisión y/o la regresión en un cierto número de pacientes con ND establecida. La disminución de la PA y de la EUA y el mejor control glicémico pueden ser predictivos de esta regresión (14).

En el niño diabético, el factor de riesgo más importante es el control metabólico insuficiente antes y después de la pubertad (36, 93, 94, 104, 186). La contribución del resto de factores para el desarrollo de ND a largo plazo (15-20 años) es de relevancia variable según los pacientes. Estos incluyen la PA, las anomalías lipídicas, los esteroides sexuales, el tabaquismo (82, 110), el grado de la glomerulopatía inicial y la HF (12), junto a algunos factores genéticos (183) y nutricionales.

Teniendo en cuenta el aumento de la incidencia y de la prevalencia de la DM 1 en niños y jóvenes, se han recomendado estrategias dirigidas a la prevención de la enfermedad y de sus complicaciones tardías. Entre estas últimas se encuentran las recomendaciones terapéuticas del DCCT (94) dirigidas al estricto control glicémico y, por otra parte, la investigación e identificación de marcadores precoces de microangiopatía con el fin de evitar o retrasar su progreso.

### I.2.3 ANATOMÍA PATOLÓGICA

Las alteraciones funcionales de la ND se correlacionan con lesiones anatomopatológicas características que en sus fases más precoces han sido definidas por estudios morfométricos (99, 103, 182, 287, 301).

De forma progresiva se detecta un aumento de la densidad de las unidades de filtración, engrosamiento de la membrana basal glomerular, expansión mesangial y, finalmente, esclerosis glomerular y arteriolar y fibrosis túbulointersticial.

Hay tres cambios histológicos principales en el glomérulo (222, 223): expansión mesangial, engrosamiento de la membrana basal glomerular y esclerosis glomerular. La esclerosis glomerular puede tener una apariencia nodular, denominada “lesión de Kimmelstiel-Wilson” y se asocia frecuentemente con depósitos hialinos en las arteriolas glomerulares, reflejo del exudado de proteínas plasmáticas, como fibrina, inmunoglobulinas y complemento, dentro de la pared vascular.

La expansión mesangial y la glomeruloesclerosis no siempre se desarrollan en paralelo, sugiriendo que pueden existir diferencias en la patogénesis. La expansión mesangial puede ser directamente inducida por hiperglucemia, por producción incrementada de la matriz o por glicosilación de las proteínas de la matriz.

Las alteraciones glomerulares características de la diabetes mellitus son de 2 tipos:

- Glomeruloesclerosis difusa: se caracteriza por ensanchamiento de la membrana basal glomerular, más engrosamiento mesangial generalizado. Esta alteración se halla siempre presente y puede ser la única lesión detectable en las fases pre-clínicas.
- Glomeruloesclerosis nodular: se caracteriza por el depósito de material PAS + en la periferia de los ovillos glomerulares (lesión de Kimmelstiel-Wilson) y hialinización de las arteriolas eferentes y aferentes así como nódulos

esféricos (gotas) en la cápsula de Bowman. También se observan depósitos de fibrina y oclusión de los glomérulos y los túbulos. Aunque la glomeruloesclerosis representa una lesión más específica, es menos frecuente que la forma difusa.

Como se ha dicho, la primera alteración morfológica es el aumento de tamaño del glomérulo. Experimentalmente se manifiesta ya en los primeros días de enfermedad. Le sigue el aumento de espesor de la membrana basal. Este engrosamiento es continuo, homogéneo y global, habitualmente de unos 500 nm de espesor (tamaño normal 360 nm) y está dado por un aumento real del colágeno tipo IV, con disminución relativa del heparán-sulfato, produciéndose una disminución de las cargas aniónicas de la membrana basal. Esta alteración iónica puede relacionarse con la pérdida de albúmina por la orina (albuminuria o proteinuria selectiva), que se asocia a desaparición de los pedicelos cuando es importante. Se ha estimado que el engrosamiento de la membrana basal aparece unos dos años después de comenzada la enfermedad clínica. A veces esta alteración se encuentra antes de la demostración clínica de la enfermedad.

Después de un período de aproximadamente 6 a 8 años aparece la glomeruloesclerosis difusa. Se caracteriza por glomérulos grandes, con membrana basal engrosada y aumento de la matriz mesangial. El material que ensancha la matriz mesangial no es conocido en su detalle, pero contiene colágeno tipo IV y puede tener fibras aisladas de colágeno tipo I.

Después de otros 10 a 15 años de enfermedad clínica, el mesangio presenta, primero en forma segmentaria y focal, expansiones nodulares, lobulillares distales, lesión conocida como glomeruloesclerosis nodular de Kimmelstiel y Wilson, típica de diabetes mellitus. El nódulo, de hasta unos 150  $\mu$ m de diámetro, es rodeado por el capilar a modo de guirnalda, a veces con dilataciones aneurismáticas. A medida que la enfermedad progresa, la lesión nodular se hace más extensa y se comprometen más lobulillos y glomérulos que se van destruyendo de esta manera.

Es poco frecuente el desarrollo de una nefropatía extramembranosa en el diabético, y es discutible si ella está relacionada directamente con la diabetes.

Finalmente, en cualquiera de las formas de compromiso glomerular descritas pueden presentarse depósitos hialinos o lipohialinos con complejos inmunes, que ultraestructuralmente corresponden a depósitos densos en el mesangio. Este tipo de glomerulopatía se denomina forma exudativa, asociada generalmente a un síndrome nefrótico o a insuficiencia renal.

Se ha demostrado que el buen control metabólico de la enfermedad puede retardar mucho la aparición del daño glomerular y su evolución progresiva (94, 95).

#### **I.2.4. PATOGENIA**

A pesar de carecer de una hipótesis unificada que explique la alta incidencia de enfermedad renal en la DM 1, se han identificado una serie de factores de riesgo, entre ellos, el mal control metabólico (hiperglucemia crónica que provocaría alteraciones bioquímicas en la membrana basal glomerular, un incremento en la permeabilidad vascular, cambios estructurales y disfunción del endotelio vascular), la HTA, el aumento del filtrado glomerular (HF) y factores dietéticos (ingesta elevada de proteínas y sodio), además de la predisposición o carga genética que representaría uno de los aspectos esenciales (176, 183, 279).

##### **I.2.4.1. Efectos metabólicos de la hiperglucemia**

El daño vascular relacionado con la hiperglucemia, es mediado por distintas vías bioquímicas (313, 316): la vía de los polioles, la vía de la hexosamina, la vía de formación de productos finales de la glicosilación (AGE) y la vía del diacilglicerol (DAG)- proteína C cinasa (PKC). La hiperglucemia induciría la superproducción de superóxido por la cadena de transporte electrónico de la mitocondria. Los superóxidos inhiben parcialmente la enzima glicolítica, gliceraldehido fosfato

deshidrogenasa (GAPDH), de este modo se desviarían metabolitos de la glicolisis a una de las cuatro vías mencionadas, causando daño hiperglucémico.

La contribución de la hiperglucemia crónica al desarrollo de la ND ha sido claramente investigada en el estudio DCCT. Así mismo, este estudio ha demostrado que la MA y la ND evidente pueden prevenirse o retrasarse mediante la práctica de tratamiento intensivo.

La hiperglucemia de la diabetes mellitus mal controlada se encuentra asociada a un incremento de la generación de AGE. Estos productos se acumulan en los riñones en la enfermedad diabética y participan directamente en la agresión local al tejido. Existen evidencias que sugieren que los factores de crecimiento, como los factores de crecimiento similares a la insulina, el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el Factor de crecimiento  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) y el factor de crecimiento de los fibroblastos, interviene en el desarrollo de las complicaciones renales en la diabetes mellitus. La actividad de la proteína cinasa C, parece encontrarse incrementada en los glomérulos diabéticos.

#### **1.2.4.1.1 Nefropatía diabética y estrés oxidativo**

Los radicales libres de oxígeno (RLO) son especies paramagnéticas que presentan en la última capa electrónica, uno o más electrones desapareados, lo que les confiere una alta reactividad. Esto les permite interactuar con diversas macromoléculas, a las que modifican oxidativamente primero, para posteriormente inducir la pérdida de su función biológica. Se produciría entonces un daño que podría afectar a sistemas biológicos importantes y producir eventualmente muerte celular.

Los RLO se generan en los organismos aerobios durante el metabolismo oxidativo de las mitocondrias tanto en condiciones fisiológicas como en determinadas situaciones fisiopatológicas. Estos RLO pueden reaccionar con una amplia variedad de biomoléculas, incluyendo lípidos, carbohidratos, proteínas y

ácidos nucleicos, así como con macromoléculas del tejido conjuntivo, interfiriendo en la función de las células.

Se sabe que los RLO se producen de forma natural como intermediarios o productos de numerosas reacciones oxidativas de las células, así como a través de diversos procesos físico-químicos o de biotransformación y su producción debe estar continuamente controlada y mantenida a muy bajas concentraciones por parte de los distintos mecanismos disponibles por las células, obligadas a desarrollarse en ambientes aeróbicos.

Entre las especies oxigénicas reactivas más importantes, cabe destacar el radical superóxido ( $O_2^-$ ), el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), y el radical hidroxilo (OH). El  $H_2O_2$ , puede reaccionar con metales de transición como el  $Cu^{+2}$  y el  $Fe^{+2}$  y dar lugar a especies oxigénicas más reactivas como OH.

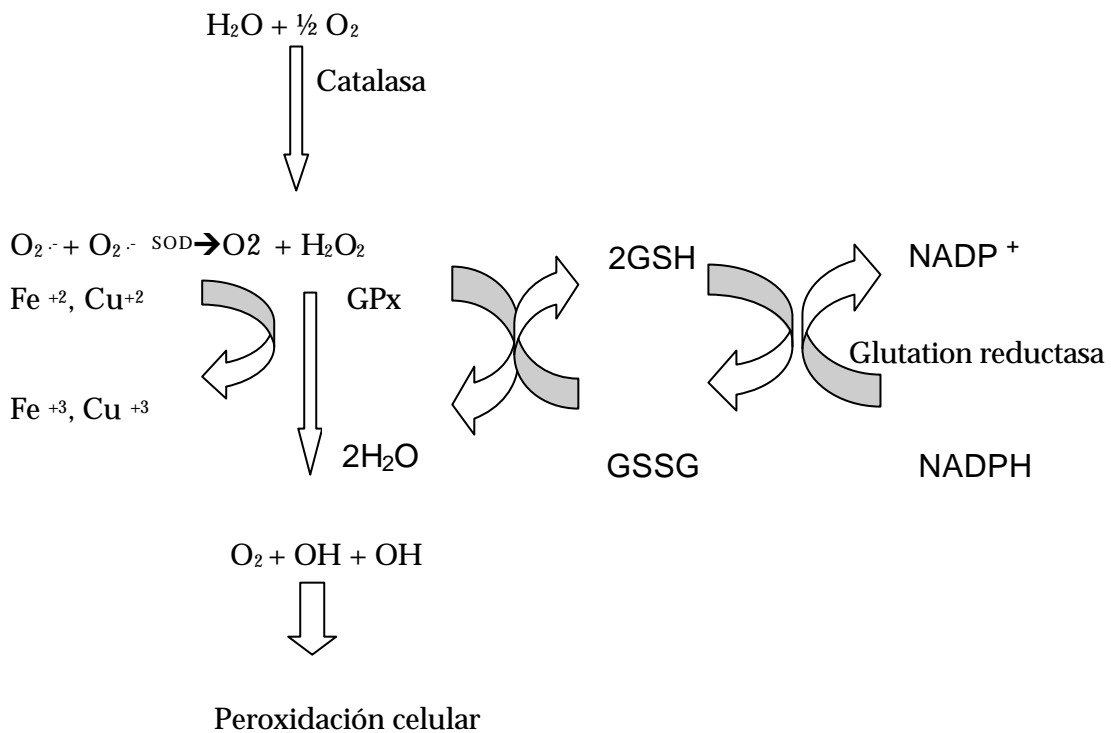
En condiciones normales existe un equilibrio entre la generación de radicales libres y su neutralización por los sistemas de defensa antioxidantes. Las moléculas afectadas son reparadas o reemplazadas. Cuando este equilibrio se altera, y la generación de moléculas prooxidantes supera la acción de los sistemas antioxidantes, se produce el denominado daño celular (6).

Los mecanismos antioxidantes en general y antioxigénicos en particular deben ser considerados globalmente como un grupo de maniobras que acontecen de forma simultánea pero sincronizada tanto a nivel macroscópico o fisiológico como a nivel molecular o bioquímico, desarrolladas por los organismos para defenderse de los efectos deletéreos causados por la sobrecarga oxigénica. Los sistemas antioxidantes se encuentran prácticamente en la totalidad de las células aeróbicas en mayor o menor cantidad y son los encargados de disminuir al máximo la producción de especies reactivas. La defensa antioxidante puede ser tanto enzimática como no enzimática.

Los sistemas enzimáticos incluyen la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa y la glutatión peroxidasa (GPx). Su eficacia reside en una triple acción



defensiva al reducir las especies oxigénicas, impedir la interacción de éstas entre sí para dar lugar a especies de mayor actividad y reparar la peroxidación de las macromoléculas.



El sistema no enzimático incluye diversos tipos de moléculas antioxidantes no enzimáticas que son capaces de detener o enlentecer la reacción en cadena que desencadena el radical libre. Su acción defensiva dependerá de una interacción directa sobre la especie reactiva para producir complejos estables o de menor reactividad. Los más importantes dentro de este grupo son la vitamina E, el ácido ascórbico, el glutathione reducido (GSH), los flavonoides, los carotenos, el ácido úrico, etc. En los últimos años se ha prestado una gran atención al uso de estos antioxidantes como agentes con fines terapéuticos (45).

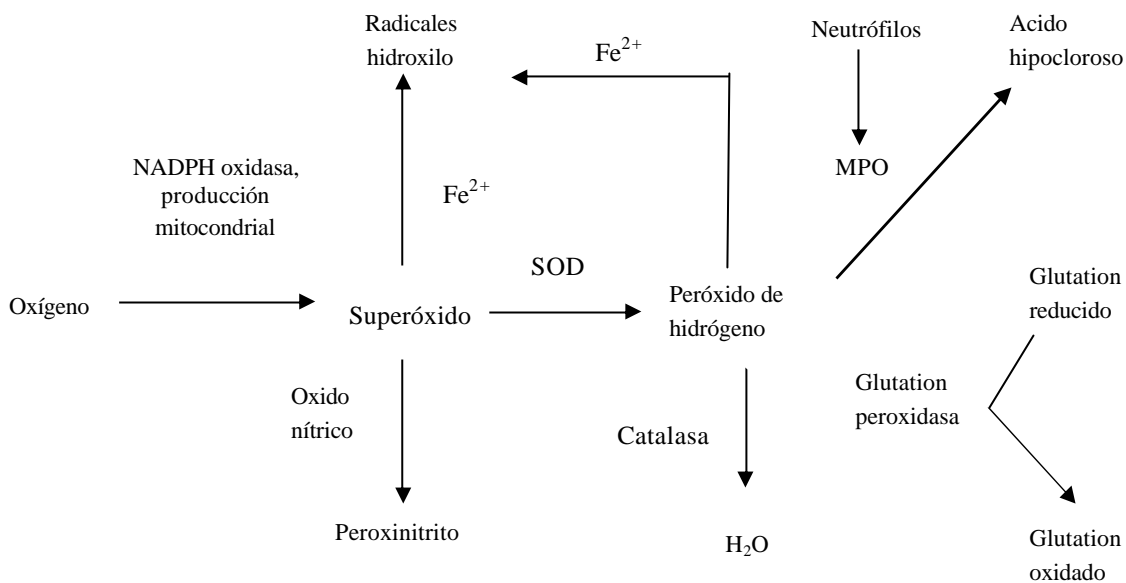
El término de estrés oxidativo (EO) fue propuesto por Sies en 1986, y se utiliza para describir los efectos deletéreos o negativos que tienen los radicales libres sobre los sistemas biológicos. La alteración del equilibrio oxidantes/antioxidantes a

favor de los primeros provoca una situación denominada “estrés oxidativo” que, de forma general, se caracteriza por la generación excesiva de productos reactivos de oxígeno. El EO se considera como uno de los mecanismos principales de daño molecular, celular y tisular en un amplio espectro de enfermedades humanas y en el envejecimiento (160, 184).

Con relación a la DM 1, el EO se ha implicado en los mecanismos de lesión de la célula  $\beta$ -pancreática, en la acción de la insulina, en los estados de resistencia insulínica y en el inicio y progresión de las complicaciones tardías de la enfermedad (127). Estas acciones se realizan a través de reacciones de autooxidación, por las que la glucosa y muchos otros compuestos orgánicos interactúan con el oxígeno con formación de RLO, y mediante la glicosilación no enzimática con producción de AGE. Con relación a las complicaciones tardías de la DM 1, se admite que la hiperglucemia y la generación de RLO contribuyen de forma significativa a la instauración de la disfunción endotelial que caracteriza a la microangiopatía. Por otra parte, está demostrado que el estado diabético no sólo favorece la generación de un exceso de RLO, sino que simultáneamente reduce los mecanismos antioxidantes intracelulares y extracelulares (261).

Recientes hallazgos sugieren que el EO (27, 28) y la disfunción vascular juegan un papel central en la patogenia de la ND (48, 49, 61, 112-114, 354).

Bajo circunstancias normales, la elevada actividad metabólica del riñón genera una cantidad considerable de RLO, especialmente peróxido de hidrógeno, superóxido y el ión hidroxilo. El mecanismo de producción de estos radicales libres se ilustra en la figura adjunta (361).



**Fig 1.** Mecanismo de producción de estrés oxidativo. Fe, hierro; SOD, superóxido dismutasa; NADPH, nicotamida adenina dinucleotido fosfato; MPO, mieloperoxidasa

La adición de un electrón al oxígeno es catalizada por la enzima NADPH oxidasa produciendo el  $O_2^-$ , mientras que la adición de otro electrón produce  $H_2O_2$ . Las reacciones de reducción-oxidación convierten parcialmente metabolitos de oxígeno  $O_2^-$  y  $H_2O_2$  en presencia de hierro, en OH por la reacción de Haber-Weiss. Además, el  $O_2^-$  reacciona con el NO y produce peroxinitrito, un potente agente oxidante que promueve la oxidación lipídica y proteica en el endotelio vascular (128). Esta interacción inactiva el NO, reduciendo la vasodilatación endotelial dependiente del NO. La alteración en la bioactividad del NO es predictor de actividad de enfermedad aterosclerótica (361).

Se ha identificado en las células epiteliales del túbulo contorneado proximal en la cortical renal, una NADPH oxidasa renal, renox, que es la principal fuente de especies reactivas de oxígeno del riñón. En presencia de mieloperoxidasa de los neutrófilos, el peróxido de hidrógeno se convierte en ácido hipocloroso, altamente reactivo, y conduce a la carbonilación de las proteínas (estrés carbonilo).

En conjunto, las especies reactivas de oxígeno producidas a niveles bajos, se han implicado en la activación del factor de crecimiento, en las repuestas mitogénicas y en la apoptosis.

Las especies reactivas de oxígeno intervienen, además, en el daño biológico extenso como la peroxidación de los lípidos de las células de membrana, la oxidación de proteínas, y la mutación y división del DNA (51). Inducen también la transcripción de factores como el factor a inducible por hipoxia y el factor kappa B nuclear (NFκB), promoviendo la proliferación e hipertrofia celular. La peroxidación del ácido araquidónico por las especies reactivas de oxígeno genera E<sub>2</sub>-isoprostanos que inducen vasoconstricción renal.

Un extenso sistema de enzimas antioxidantes (SOD, GPx y catalasa), coexiste con sistemas eliminadores de radicales libres no enzimáticos (GSH, ácido ascórbico, α-tocoferol). Hay que destacar la GPx, expresada en los podocitos glomerulares, células epiteliales parietales y células del epitelio tubular, que juega un papel prominente en la prevención de la peroxidación lipídica.

#### **a) La hiperglucemia genera estrés oxidativo**

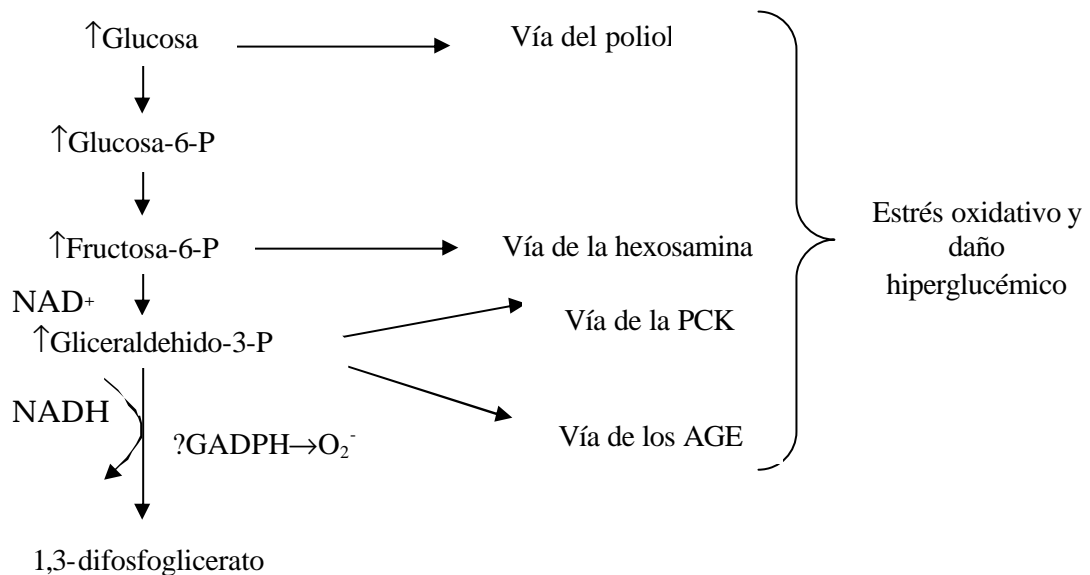
Hay estudios que indican que con respecto a la hiperglucemia: (1) el metabolismo mitocondrial juega un papel crítico en la génesis de especies reactivas de oxígeno, (2) en diversos pasos del metabolismo de la glucosa se induce la formación de especies reactivas de oxígeno y, (3) las alteraciones hemodinámicas en respuesta a la hiperglucemia están estrechamente ligadas a la generación de EO (35).

Nishikawa y cols. (261, 262), establecieron que células endoteliales aórticas bovinas en medios con concentraciones variables de glucosa, liberaban especies reactivas de oxígeno en proporción a la concentración exógena de glucosa. La incubación de células con ciertos inhibidores del transporte de electrones por el citoplasma y la mitocondria revela que el EO inducido por hiperglucemia se genera primariamente en la mitocondria. Además, el O<sub>2</sub>·<sup>-</sup> parece ser la primera especie

reactiva de oxígeno generada por este mecanismo, ya que la coincubación de las células con SOD mitocondrial previene el incremento de especies reactivas de oxígeno inducidas por hiperglucemia.

Como consecuencia de la hiperglucemia, la glucosa y sus metabolitos como la fructosa 1,6 fosfato y el gliceraldehído-3-fosfato son desviadas a vías metabólicas alternativas.

Al menos cuatro vías están asociadas con el daño celular mediado por la hiperglucemia (Figura 2) (52)



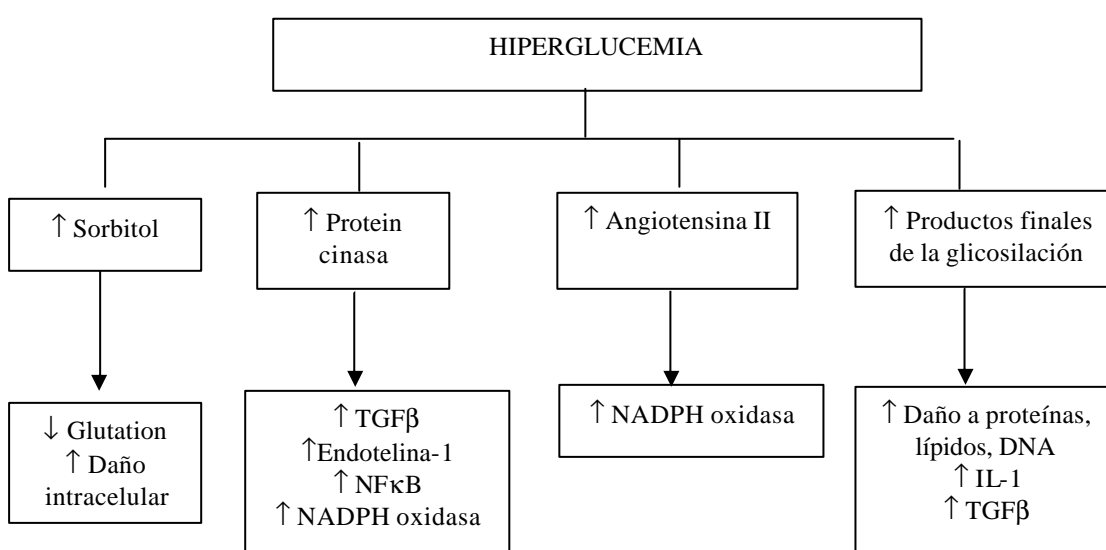
**Fig.2.** Mecanismo unificado de Brownlee: daño inducido por hiperglucemia en la diabetes (52)

En la vía del poliol, la glucosa es reducida a sorbitol a expensas de consumir NADPH. Los niveles elevados de glucosa pueden deplecionar los niveles de NADPH. El sorbitol, por la aldolasa reductasa, se acumula intracelularmente e induce daño celular disminuyendo también la concentración del antioxidante glutatión.

En la vía de la hexosamina, la fructosa-6-fosfato se convierte en glucosamina-6-fosfato y finalmente en difosfato N-acetil glucosamina. Este último producto puede modificar la transcripción de factores como el Sp1, incrementando la expresión del TGF- $\beta$  y del inhibidor del activador del plasminógeno 1 (PAI-1) (105)

La protein-quinasa C (PCK) y los AGE, pueden derivar del gliceraldehído-3-fosfato. La PCK está implicada en la regulación de la permeabilidad vascular, flujo sanguíneo y neovascularización por la activación del TGF $\beta$ , endotelina-1 y NF $\kappa$ B (126, 171). Los AGE, que modifican proteínas, lípidos y ácidos nucleicos y consecuentemente generan radicales libres intracelulares, activan varias citoquinas y factores de crecimiento como IL-1 y TGF $\beta$  (2, 115, 120) (figura 3).

El rasgo común de estas cuatro vías relacionadas con la diabetes, es el incremento del EO con un incremento en la formación intramitocondrial de RLO (294); éstas impiden la vía glicolítica por inhibición de la glicerol aldehído-3 fosfato deshidrogenasa (GAPDH) así como la conversión de gliceraldehído-3 fosfato en 1,3 difosfoglicerato. Los niveles altos de glucosa implican además un incremento de sus metabolitos glucosa-6 fosfato, fructosa-6 fosfato y gliceraldehído-3 fosfato. El acúmulo de estos metabolitos resulta en una derivación a la vía del poliol, hexosamina, PCK y AGE.



**Fig 3.** Mecanismo de toxicidad inducida por hiperglucemia

Experimentalmente, en cultivos celulares, estas vías pueden ser inhibidas tras la coincubación con agentes que disminuyen los RLO, cada una por inhibición de la superproducción de  $O_2$  o de su metabolismo. De aquí se induce que existe una fuerte asociación entre la generación de RLO y la activación de vías metabólicas implicadas en el desarrollo de complicaciones de diabetes (261).

Para medir el efecto de la hiperglucemia sobre el EO, Marfella y cols. (213), indujeron hiperglucemia de 270 mg/dl en adultos jóvenes sanos durante 120 minutos. Esta elevación aguda de la glucosa plasmática estuvo asociada a un incremento plasmático de nitrotirosina, un marcador de formación de peroxinitritos (213). Adicionalmente, este grado de hiperglucemia aguda llevaba a un incremento del trabajo cardíaco y de la PA sanguínea media, que era prevenida por la infusión de glutathione, sugiriéndose que las especies reactivas de oxígeno mediaban los efectos hemodinámicos agudos de la hiperglucemia. La hiperglucemia aguda mantenida llevaba a un incremento en la concentración plasmática de citocinas inflamatorias IL-6, IL-8 y factor de necrosis tumoral a (363) en pacientes con metabolismo normal de la glucosa y en los de intolerancia a la glucosa. La infusión de glutathione en este modelo, prevenía la respuesta inflamatoria, sugiriendo que las especies reactivas de oxígeno mediaban en la liberación de citocinas.

El EO inducido por hiperglucemia ha sido demostrado en pacientes con clínica establecida de diabetes mellitus. En esta población, la cetoacidosis y la hiperglucemia no cetósica están asociadas a un incremento de la peroxidación lipídica medida por los TBARS (sustancias reactivas con el ácido tiobarbitúrico), y cambios del metabolismo oxidativo que mejoran al solucionar la hiperglucemia aguda.

La hiperglucemia puede desencadenar la activación del sistema renina-angiotensina en personas sanas voluntarias y en personas con DM 1 precoz ya que la angiotensina II es un regulador importante de la NADPH-oxidasa que cuando se activa, genera EO, ello supone un mecanismo adicional del daño hiperglucémico por EO (230) (figura 3).

## **b) El riñón como diana del daño oxidativo.**

El daño oxidativo se ha localizado en todas las estructuras renales, glomérulos, tubulointersticial (15) y vascular. Se ha sugerido, que el descenso en el transporte intracelular del eliminador de radicales libres, el ácido ascórbico, crea un desbalance en el estado intracelular de oxidación-reducción que acelera el daño celular por EO. Aunque la forma reducida del ácido ascórbico se transporta dentro de las células por canales Na-dependientes, la forma oxidada del ácido ascórbico, dehidroascorbato, compite con la glucosa para entrar con los transportadores de la glucosa y consecuentemente es reconvertida a ácido ascórbico. Este transporte antioxidante puede relacionarse con el daño celular renal (361).

Existe una continua relación entre la gravedad de la ND y el grado de EO. Pacientes con DM tipo 2 con evidente proteinuria tienen mayor grado de daño al DNA inducido por EO que pacientes diabéticos con MA, medido por la excreción urinaria de 8-hidroxideoguanosina; una excreción urinaria más baja, ocurre en pacientes diabéticos sin MA. De forma similar, pacientes con diabetes tipo 2 con albuminuria presentan concentraciones plasmáticas de peróxidos lipídicos mayores que pacientes diabéticos sin albuminuria. Estudios realizados en sujetos de origen africano con normoalbuminuria mostraban mayor lipoperóxidos plasmáticos que sujetos blancos con normoalbuminuria, sugiriendo la existencia de diferencias raciales en la generación de EO en la diabetes (361). Otro dato que apoya este fenómeno es la mayor generación de marcadores de peroxidación lipídica en negros con hiperlipemia aguda comparados con blancos (361).

## **c) La Nefropatía Diabética está asociada con la alteración de la actividad antioxidante**

La reducción en la concentración de enzimas antioxidantes puede contribuir al daño renal de la diabetes. Seghieri y cols. (325), observaron que sujetos con DM 1 con MA tenían menos SOD plaquetar que sujetos diabéticos sin MA. De forma similar, Ceriello y cols. (60), encontraron que fibroblastos de piel de sujetos con DM 1 y nefropatía, mostraban un incremento anormal de la actividad antioxidante enzimática (incrementaba la actividad de la SOD, no incrementaba la actividad de la



catalasa o de la GPx) cuando se exponían al estrés de concentraciones elevadas de glucosa, mientras que células de sujetos diabéticos sin nefropatía mostraban incremento de la actividad de las tres enzimas antioxidantes.

#### **d) Alteraciones estructurales en ND implicadas por estrés oxidativo**

Las alteraciones bioquímicas en la ND se correlacionan con anomalías estructurales glomerulares. La exposición de riñones de rata a especies reactivas de oxígeno reduce la síntesis de novo de proteoglicano heparan sulfato, un componente crítico de la membrana basal glomerular; este efecto es reversible con la infusión de catalasa, sugiriendo que los radicales libres intervienen en la reducción de la síntesis de proteoglicanos en este modelo animal *in vivo*.

Datos histológicos en humanos sugieren la asociación entre EO y ND. El análisis de biopsias renales de sujetos con DM tipo2 muestran productos de glicoxidación (productos combinados de glicosilación y oxidación proteica) y lipoxidación (modificación de aminoácidos en proteínas durante la peroxidación lipídica) en la matriz mesangial y en las lesiones nodulares glomerulares. Estas anomalías raramente son vistas en muestras de controles no diabéticos (361).

#### **I.2.4.2. Genética de la nefropatía diabética**

En la actualidad se sabe que más de 20 regiones del genoma humano se han relacionado con la predisposición genética a la DM 1, y que, en conjunto, los genes de la región HLA contribuyen a algo más del 50 % de esta susceptibilidad (10, 11, 54, 101, 121, 122, 125, 245, 258, 259, 270).

El DCCT demostró que el control glicémico estricto reduce la incidencia y la progresión de la ND (94, 95). Pero es igualmente evidente que, por sí sola, la hiperglucemia no es suficiente para explicar la aparición de la ND. Observaciones epidemiológicas a largo plazo demuestran que como máximo el 35 % de los pacientes desarrollan ND, independientemente del control glicémico. Este hecho

contrasta con otras complicaciones vasculares, como la retinopatía, en la que el aumento de su prevalencia aumenta de forma continua con relación a la duración de la DM. Ello implica reconocer que un subgrupo de pacientes presenta riesgo de nefropatía, posiblemente relacionado con factores hereditarios. Algunas otras circunstancias lo apoyan:

- Está demostrado que en familias con más de un miembro afecto de DM 1, cuando un miembro desarrolla ND, sus hermanos diabéticos tienen un riesgo 4 veces superior de desarrollar ND comparado al de un familiar directo de un paciente con DM 1 que no presenta ND. Dicho de otra forma, el riesgo acumulado de los hermanos diabéticos de un paciente con ND es del 71,5 %, frente a un 25 % en el caso de los familiares de un diabético sin nefropatía (124, 322, 39, 323).
- Los padres de pacientes DM 1 que desarrollan ND tienen una PA más elevada y desarrollan más frecuentemente enfermedad cardiovascular que los padres de diabéticos sin nefropatía (181, 370).
- Asimismo, el estudio EURODIAB ha demostrado que los niños y adolescentes DM 1 hijos de padres con HTA, tienen una PA más elevada que los diabéticos hijos de padres sin HTA (201).
- Finalmente, los padres de adolescentes y adultos jóvenes DM 1 con proteinuria mueren más precozmente y presentan con más frecuencia hiperlipidemia y resistencia a la insulina.

Los métodos de estudio genético más empleados hasta ahora han sido mediante “estudios de casos y controles” a través de la comparación de alelos y polimorfismos en loci genéticos de interés en pacientes y controles.

Recientemente (338) se han introducido nuevas técnicas de genotipado basadas en la PCR y la tecnología de microarrays, permitiendo la identificación de polimorfismos de nucleótidos simples y aumentando la eficiencia (coste-efectivos) de

los estudios poblacionales, así como métodos de genómica comparativa tras la disponibilidad del genoma completo de humanos y de animales de laboratorio con distintos modelos de diabetes experimental. Los resultados obtenidos hasta ahora deben considerarse con reserva al haberse demostrado diferencias patogénicas significativas entre la ND del hombre y la experimental.

Finalmente, la tecnología microarray permite también estudiar el fenotipo (Genómica Funcional), es decir, analizar los efectos del “medio” diabético, el efecto del tratamiento, etc., sobre la expresión de los genes en el tejido renal considerando una amplia escala del genoma. La disponibilidad de bases de datos amplias (desarrollo computacional y bioinformático) permite la integración de datos genéticos y genómicos relacionados con datos clínicos y bioquímicos. En el futuro estos sistemas informáticos serán críticos para la síntesis y la interpretación de las enormes cantidades de datos proporcionados por la investigación genética y molecular.

En la siguiente tabla se refieren los genes hasta ahora implicados en la predisposición genética para el inicio o la progresión de la ND en humanos DM 1 frente a controles sanos, según una reciente revisión (338). Por su mayor consistencia con los datos clínicos en las distintas series, tendrían especial relevancia ACE, ALR2, APOE y MTHFR. No obstante, estos resultados deben interpretarse con cautela. Debido al tamaño reducido de las muestras y a diferencias de diseño de las poblaciones estudiadas, los resultados hasta ahora, han sido conflictivos. De acuerdo con el concepto de un carácter genético complejo, se ha sugerido que se precisarán estudios mucho más amplios (>1.000 pacientes) antes de que las combinaciones de caracteres genéticos implicados sea posible (298).

**Tabla 3.** Genes candidatos de la ND en el hombre.

<b>Gen</b>	<b>Símbolo</b>	<b>Variante genética</b>	<b>Cromosoma</b>
Antígeno de histocompatibilidad	HLA	DR3/4	6
Enzima conversor de angiotensina	ACE	D/Y	17
Angiotensinógeno	AGT	M235T	1
Receptor I de la angiotensina II	AT1R	A1166C	3
Aldosa reductasa	ALR2	Alelo Z + 2	7
Heparán-sulfato	HSPG2	BarnHI	1
Apolipoproteína E	APOE	Alelo e2	19
Paraoxonasa 1	PON1	T107C, Leu54Met	7
NO endotelial	NOS3	Alelo 'a'	7
Metilentetrahidrofolato reductasa	MTHFR	C677T	1
Interleuquina 1-beta	IL1B	T105C	2
Péptido natriurético atrial	NPPA	Hpal (C708T y Scal)	1
Proteína-G beta-3	GPB3	C834T/Trp64Arg	12
Ecto-nucleótido pirofosfatasa/ fosfodiesterasa	ENPP1	K121Q	6
Transportador 1 de glucosa	GLUT1	Xbal/HaeIII	1
Factor de crecimiento beta-1	TGFB1	Leu10Pro, Arg25Pro, Thre263Ile	19

### **I.2.5. DIAGNÓSTICO**

La historia natural de la ND se entiende como un camino progresivo desde las alteraciones funcionales renales hasta la insuficiencia renal terminal (IRT), atravesando estadios intermedios marcados por la aparición de MA y proteinuria. Desde el punto de vista clínico, los primeros cambios funcionales en la DM 1 son un incremento en la eliminación urinaria de albúmina y una elevación del FG. Estos cambios ocurren poco después del diagnóstico de la diabetes pero una vez que el control glicémico es adecuado, la función renal vuelve a la normalidad. Después de 5 a 10 años de evolución de la diabetes, algunos pacientes progresan a un estadio en el cual aumenta la MA sin existir cambios sustanciales en el FG. La existencia de MA ya implica la existencia de nefropatía, aunque en fase incipiente. Algunos de estos

pacientes desarrollarán proteinuria, también conocida como macroproteinuria o ND establecida. Cuando se produzca un descenso de la tasa de FG, virtualmente todos los pacientes progresarán hacia la IRT. En los pacientes DM 1 habitualmente el incremento de la PA sigue al desarrollo de la MA en 2 a 5 años. La prevención de la ND es importante porque la profilaxis y un adecuado tratamiento reducen la mortalidad precoz.

#### **I.2.5.1. Microalbuminuria**

La MA es el marcador unánimemente aceptado para la identificación de pacientes con riesgo de desarrollar ND (30, 34, 131, 133, 143, 242, 243, 246).

En los últimos años se ha confirmado que una ligera elevación de la EUA es un predictor precoz del desarrollo posterior de ND clínica. Se pueden medir pequeñas concentraciones de albúmina en orina mediante inmunoturbidimetría, nefelometría o radioinmunoanálisis (75). Como media, el radioinmunoanálisis proporciona valores un 10-15% más bajo, aunque es el método menos utilizado en el laboratorio clínico. El límite normal de la EUA se ha establecido en el percentil 95 obtenido en diferentes estudios con muestras urinarias de amplias cohortes de niños y adolescentes sanos (21, 46, 203, 237, 246).

La investigación clínica de la MA puede realizarse por 3 métodos:

- Medida de la relación albúmina/creatinina en una muestra al azar.
- Recolección de orina de 24 h con medida simultánea del aclaramiento de creatinina (CCr).
- Recolección de orina nocturna en un tiempo determinado (orina minutada).

En niños, la orina nocturna tiene ventajas porque evita el efecto de la postura, del ejercicio físico, de las variaciones mayores de la PA y de los efectos agudos de la alimentación sobre la albuminuria y ha mostrado excelente correlación con la EUA de 24 h, si bien se obtienen valores 15-20 % más bajos.

Se considera MA positiva cuando la EUA es  $\geq 30$  mg/24 h, equivalente a 20  $\mu\text{g}/\text{min}$  en una muestra de un determinado tiempo, o un índice albúmina/creatinina en orina  $>$  de 30  $\mu\text{g}/\text{mg}$  de creatinina ó 30 mg/gr de creatinina en una muestra al azar.

La MA persistente debe diferenciarse de la forma intermitente y transitoria, cuya relevancia en el pronóstico de la DM en niños y adolescentes es desconocida. La ND incipiente debe sospecharse cuando la MA se encuentra en al menos 2 de 3 muestras urinarias obtenidas preferiblemente en un período de 1 a 6 meses y mantenerse más de dos años. Existe una alta tasa de regresión de la MA en niños; aproximadamente un 50 % revierte a normoalbuminuria al final de la pubertad (89, 90, 144, 159, 277, 319).

Se considera que entre un 4,3 % y un 20 % de niños y jóvenes con DM 1 presentan MA como signo de ND incipiente. La discrepancia entre los estudios puede explicarse en parte por diferencias en la edad, la duración de la diabetes, el control glicémico, el tamaño de la cohorte estudiada y el método empleado (239). Probablemente este porcentaje puede estar reduciéndose en la actualidad al 5 %. La prevalencia es mayor en adolescentes (13-14 %) y es muy rara observarla antes de la pubertad, y cuando la duración de la diabetes es menor de 4 años. Sin embargo, es posible detectar MA incluso en estadios tempranos de la pubertad, especialmente en niños de más de 2 años de evolución de la DM 1. Una observación interesante es el hecho de que en niños que posteriormente desarrollan MA presentan un cociente normal más alto de albúmina/creatinina urinaria en los 2 primeros años después del diagnóstico y un aumento en los primeros 5 años (151).

#### **I.2.5.2. Tensión arterial y nefropatía diabética**

Por sí misma la HTA es un factor de riesgo demostrado para el desarrollo y la progresión de la ND en adultos con DM (33, 152, 156, 181, 212, 235, 244, 353, 355).

La totalidad de estudios en niños y adolescentes en las fases precoces de la diabetes, con intervalos de edad entre 10 y 18 años y duración de la enfermedad

entre 2 y 14 años, no observan diferencias en los valores de PA sistólica o diastólica, obtenidas durante la exploración clínica periódica (PA casual), en relación a los sujetos sanos con distribución de edad y sexo similar. Tampoco se ha observado correlación estadística significativa entre los valores de PA casual sistólica/diastólica con la hipertrofia renal ni con el FG (281, 383).

En los últimos años, los registros de 24 h de la PA ambulatoria (MAPA) se han mostrado en adultos jóvenes, así como en niños y adolescentes como un marcador predictivo de la ND (154, 207).

En conjunto, los niños y adolescentes diabéticos muestran mayor carga diastólica de 24 h y mayor PA diastólica durante el día (período de actividad) que los controles sanos.

La MAPA es especialmente útil para el diagnóstico de la ND incipiente. Así, los niños con DM 1 y MA intermitente o persistente muestran mayor carga diastólica/día con relación a los normoalbuminúricos y, de forma característica, en caso de MA persistente, la pérdida de la variabilidad circadiana con una atenuación del descenso fisiológico nocturno (fenómeno de *no-dipping*). Además, los valores de la PA sistólica nocturna pueden ser un marcador precoz de ND al haberse observado como determinantes de MA persistente (203, 206, 320, 352).

Los registros de la MAPA en niños diabéticos reflejan la relación entre la DM 1, el riesgo de ND y la agregación familiar de la HTA. Datos recientes muestran que los niños diabéticos con padres hipertensos tienen PA diastólica de 24 h más elevada y mayor carga diastólica, tanto en el período día como durante el sueño nocturno. La pérdida de variabilidad circadiana (*no-dipping*) fue más frecuente en niños y adolescentes diabéticos con padres hipertensos. En los niños con MA persistente la EUA se correlacionó con la PA diastólica de 24 h, concluyéndose que la MAPA puede identificar pacientes diabéticos con riesgo de nefropatía (208).

El perfil tensional ambulatorio de 24 h se ha recomendado en todos los niños diabéticos puberales. La existencia de un alto porcentaje de valores de MAPA por

encima de los percentiles normales para la edad y género, o lecturas de MAPA superiores a valores de HTA (>140/90 mm Hg) están invariablemente asociados a enfermedad renal diabética (203).

### **I.2.5.3. Hiperfiltración renal.**

Al inicio de la diabetes, antes de que se establezcan las complicaciones, hay un incremento en el tamaño renal y en la tasa de filtración glomerular (TFG) (162, 233,241). Este aumento en la TFG es el punto de partida de un eventual daño en el glomérulo que más tarde llevaría a las complicaciones (44, 58, 72, 217, 306). La proteinuria, azoemia, fibrosis tubulointersticial y eventual fallo renal crónico no ocurrirían hasta años más tarde.

Se han propuesto dos hipótesis para explicar la disfunción renal precoz inducida por la diabetes:

- De acuerdo con la “hipótesis vascular” , desarrollada en el epígrafe de la patogenia, (150, 264, 265, 314, 318, 332) las anomalías en el control vascular glomerular llevarían a vasodilatación e HF en la diabetes precoz y secundariamente a la hipertrofia y posterior lesión estructural. En este escenario el crecimiento del riñón se interpreta como una respuesta compensatoria a la carga aumentada por la HF. Así, el crecimiento aumentado de túbulo proximal permitiría un aumento en la reabsorción (el movimiento de sal y líquidos de la luz tubular hacia el componente plasmático) y la capacidad de prevenir pérdidas de sal y líquidos que podrían resultar del aumento la carga.

- La “hipótesis tubular” o túbulo-céntrica (312) sugiere, por el contrario, que la alteración inicial sería la hipertrofia renal (96, 97, 324, 375) como consecuencia de la hiperglucemia y de la inducción de citoquinas y de factores de crecimiento locales que esta alteración metabólica provocaría. De forma inmediata a esta hiperplasia e hipertrofia de la nefrona y, en particular del túbulo proximal (287, 322, 349), se produciría un aumento de la reabsorción tubular proximal y, en consecuencia, una disminución del sodio que llega a la mácula densa. La HF sería consecuencia de la



inmediata activación del mecanismo de retroalimentación túbulo-glomerular (“feedback” túbuloglomerular) que, a través del incremento del FG, se haría efectivo con el fin de normalizar el aporte de sodio al túbulo distal (357). En este escenario, el crecimiento sería primario a la HF, y no una consecuencia de ello.

Es bien conocido que la función renal consiste en la extracción de productos metabólicos de desecho de la sangre excretándolos por la orina. Además, el riñón es el órgano efector para el mantenimiento del agua corporal y del balance de sodio y otros iones inorgánicos contribuyendo a la regulación de la PA. El mecanismo de retroalimentación glomérulo tubular sirve para establecer un balance adecuado entre la reabsorción tubular, en los segmentos anteriores a la mácula densa, y el volumen del FG.

La hipótesis tubular de la HF en las fases iniciales de la DM, planteada a partir de datos clínicos en jóvenes DM 1 y en animales de laboratorio con DM 1 experimental (22, 349, 351, 357), considera que existe un incremento primario de la reabsorción en el túbulo renal proximal y que este incremento produce de forma secundaria el aumento del volumen del FG (313, 349). El aumento secundario del FG contribuye a normalizar la carga salina que alcanza el túbulo distal. La condición de un incremento primario de la reabsorción en el túbulo proximal no sólo se refiere a un aumento absoluto de la reabsorción de Na y agua (56), sino a un incremento de la reabsorción fraccional proximal, es decir de la reabsorción proximal normalizada al FG. En niños y adolescentes se ha demostrado HF y aumento de la extracción de PAH en las fases iniciales de la DM (279) y resultados recientes de reabsorción tubular segmentaria en pacientes DM 1 normoalbuminúricos, mediante técnicas de aclaramiento, sugieren que la primera alteración en la HF de la DM es un aumento de la reabsorción proximal tubular de Na, activando probablemente el mecanismo de retroalimentación tubuloglomerular (74, 362). Los datos experimentales parecen apoyar que el incremento de la reabsorción proximal en las primeras etapas tras el inicio de la DM 1 es consecuencia del efecto combinado del crecimiento tubular y del incremento del cotransportador Na/glucosa a nivel del túbulo proximal favorecido por la hiperglucemia (313). La actividad aumentada de la orintina-decarboxilasa, evidenciada en estudios experimentales (349, 357) y su efecto en la

síntesis aumentada de poliaminas como consecuencia de la glucosuria y, por la reabsorción tubular, la mayor disponibilidad de glucosa por la célula tubular se han sugerido como los mecanismos bioquímicos para la hipertrofia -hiperplasia renal que está presente desde las fases iniciales de la diabetes.

Además de la activación del balance glomerulotubular, responsable de la HF, la absorción disminuida de la albúmina y su defectuoso procesamiento lisosomal por la célula tubular proximal puede contribuir independientemente a la MA incipiente en las fases iniciales de la diabetes (347).

En contra de las observaciones clínicas y experimentales que contemplan como principal la hipótesis tubular en la patogenia de la hipertrofia renal y la observada en las etapas iniciales de la DM 1, resultados experimentales muy recientes con ratones transgénicos, deficientes del receptor de la Adenosina A(1) que no pueden activar el mecanismo de retroalimentación tubulo-glomerular sugieren que este mecanismo no es el único causante de la HF, dado que ratones con esta modificación genética muestran HF a las pocas semanas del establecimiento de una DM experimental (308). Se concluye con la necesidad de considerar las alteraciones hemodinámicas en el capilar glomerular (hipótesis vascular) a partir de los efectos metabólicos de la hiperglucemia, incluida la producción de RLO y el EO.

La HF se reconoce como la primera anomalía funcional renal tras el debut diabético y constituye un factor esencial en el desarrollo y progresión de la ND en niños y adultos (232). Tasas de FG superiores a 150 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> se consideran indicativas de HF.

#### **1.2.5.4. Reserva funcional renal**

En sujetos sanos, la ingestión de una sobrecarga proteica provoca un aumento brusco del flujo plasmático renal (FPR) y del FG, cuya medición permite estimar la reserva funcional renal (163). El mecanismo exacto por el que algunas proteínas y aminoácidos (arginina) aumentan el FPR y el FG no está bien establecido. Existen datos controvertidos sobre el papel que pueden jugar algunas

hormonas, especialmente el glucagón, la GH, ciertas hormonas intestinales (gastrina, neurotensina, polipéptido pancreático) (118), prostaglandinas y, más recientemente, la síntesis de NO por el endotelio vascular (199, 256). En situaciones clínicas con HF, como la que caracteriza a las fases más precoces de la ND, el incremento del FG tras la sobrecarga proteica (251) o la de arginina se atenúa o incluso se anula, permitiendo estimar la reserva funcional renal (110). Para evaluar la respuesta de HF, se ha utilizado la sobrecarga proteica con proteínas animales (carne, pescado) y la administración oral o intravenosa de algunos aminoácidos (42). La arginina se ha mostrado como estímulo eficaz para evaluar la respuesta de HF en sujetos sanos, y es más potente si se administra por vía oral que en perfusión i.v., con porcentajes de incremento del FG de  $28,2 \pm 8,8\%$  en niños.

En el diagnóstico clínico, el efecto renal de la arginina se ha utilizado para evaluar los estados de HF, entre otros el de la ND incipiente en niños y adultos (251, 291, 300, 331). Aunque son escasos los estudios realizados en pacientes diabéticos, los datos disponibles muestran una reducción significativa del incremento del FG tras la sobrecarga oral con arginina en las fases precoces de la evolución de la diabetes. Un estudio reciente en 44 niños y adolescentes (edad media  $14 \pm 2,9$  años), con tiempo medio de evolución de diabetes de  $7 \pm 4,2$  años, control diabético insuficiente (HbA1c media  $9 \pm 2,3\%$ ) y MA media de  $25 \pm 37$  mg/día/1,73 m<sup>2</sup> ( $> 30$  mg/día/1,73 m<sup>2</sup> en 9 pacientes), el incremento del FG fue de  $-2 \pm 21\%$  no comprobándose reserva funcional renal en 33 pacientes (75%). Este estudio destaca que en todos los pacientes con EUA  $> 7$  mg/día/1,73 m<sup>2</sup> la administración de arginina no modificó el CCr basal, evidenciando el estado de HF con una reserva funcional nula incluso en niños normoalbuminúricos.

#### **I.2.5.5. Marcadores de disfunción tubular**

En pacientes diabéticos recién diagnosticados o en situaciones de gran descontrol metabólico se ha observado una excreción urinaria aumentada de proteínas de bajo peso molecular. Se especula si determinados índices de disfunción tubular pueden ser predictores de riesgo de MA y de ND en adultos jóvenes y niños

con DM de corta evolución. Se han estudiado diferentes proteínas, especialmente la beta-2 microglobulina (B2MG) y la proteína transportadora del retinol (RBP), así como la N-acetil-glucosaminidasa (NAG) que es un marcador de lesión de la célula tubular renal proximal (34).

#### **a) B2MG-uria y RBP-uria**

Ambas son proteínas de bajo peso molecular que se filtran libremente a través de la barrera glomerular y son reabsorbidas (endocitosis) y catabolizadas casi completamente por la célula tubular proximal en individuos sanos. Su presencia elevada en orina (proteinuria tubular) se considera como un marcador de disfunción de la célula tubular proximal. En pacientes diabéticos recién diagnosticados o con mal control metabólico, la hipoinsulinización puede limitar el aporte de glucosa intracelular a la mitocondria y, como resultado, producirse una insuficiente generación de ATP que se exprese en una endocitosis disminuida de proteínas por la célula tubular proximal.

No obstante, algunos datos disponibles en adolescentes y adultos no sugieren que la B2MG-uria ( $>0,50$  mg/mg de creatinina) y la RBP-uria ( $> 30$   $\mu\text{g}/\text{mmol}$  de creatinina) se comporten como predictores de MA en pacientes DM 1. En un estudio multicéntrico reciente, se demuestra que la RBP-uria es una alteración frecuente en niños diabéticos, con una probabilidad próxima al 100 % cuando se constata un mal control glicémico. Datos similares han sido observados con la B2MG

Es de interés destacar la observación de que existe una elevada correlación entre RBP-uria y la EUA en los años anteriores al inicio de MA, pero que esta correlación se pierde en los años posteriores tras la aparición de la MA. Se piensa que el aumento de la excreción de albúmina por la permeabilidad vascular y glomerular incrementada puede no afectar inicialmente a la proporción de albúmina y RBP filtradas. El mayor aumento de la albuminuria en la evolución de la diabetes demuestra que en fases iniciales, la disfunción tubular puede ser un mecanismo importante de la eliminación urinaria de albúmina, pero que en fases más

avanzadas de la enfermedad el mecanismo principal de la albuminuria es la disfunción glomerular.

### **b) NAG-uria**

En niños diabéticos se ha comprobado NAG-uria ( $> 50 \mu\text{mol-pnp/h/mmol}$  de creatinina) en el 93 % de los casos, independientemente de la edad, con una probabilidad acumulada del 98 % después de 10 años del comienzo de la enfermedad. Aunque la NAG urinaria está elevada en el 70 % de los pacientes antes de que aparezca la MA, la probabilidad de que se produzca es similar a los sujetos normoalbuminúricos, por lo que no se comporta como un predictor de MA en la DM 1.

El mecanismo de la NAG-uria en pacientes diabéticos puede explicarse por modelos experimentales, en los que la depleción transitoria de ATP conduce a la apoptosis de las células tubulares proximales y a la liberación de hidrolasas ácidas a la orina. Las elevadas concentraciones de NAG en la orina en el curso de la DM 1 pueden reflejar daño tubular, incluso en fases precoces de la enfermedad. En situaciones de insulinización insuficiente se inhibe la entrada de glucosa a las células, disminuyendo la generación de ATP. En fases más tardías, cuando ya existe MA, la NAG-uria puede ser debida a un recambio lisosomal aumentado, secundario al incremento de la endocitosis de la albúmina por la célula tubular proximal.

### **I.2.5.6. Marcadores metabólicos**

Como se ha revisado anteriormente, la ND se produce por la interacción de factores metabólicos y hemodinámicos (148,149).

En estados de hiperglucemia crónica, las vías metabólicas dependientes de la glucosa se encuentran activadas en el riñón y otros órganos. Estas vías incluyen la formación de polialcoholes, el EO y la formación de AGE (195, 286).

Los factores hemodinámicos están también implicados (9), e incluyen el aumento de la PA sistémica y de la presión intraglomerular, junto a la activación de varias hormonas vasoactivas (22) incluyendo el sistema renina-angiotensina (145) y la endotelina. Estos factores hemodinámicos, de forma independiente, o en combinación con los factores metabólicos, activan segundos mensajeros intracelulares (99) como la PKC y la MAP-cinasa, factores de transcripción nuclear y varios factores de crecimiento (citocinas) (120, 126). Entre estos últimos debe destacarse la citocina proesclerótica, el TGF- $\beta$ , responsable del acúmulo de la matriz extracelular, y el VEGF o factor de crecimiento del endotelio vascular, capaz de estimular la neoangiogénesis y de incrementar la permeabilidad del endotelio.

La consecuencia de estas alteraciones hemodinámicas y metabólicas es el aumento de la permeabilidad renal a la albúmina y la expansión mesangial, responsables de la proteinuria, la glomeruloesclerosis y la fibrosis tubulointersticial.

En los últimos años, muchos de estos compuestos han sido evaluados como posibles marcadores del daño renal, relacionándolos con la HTA, la MA y el estado de HF. Asimismo, han permitido la introducción de nuevas estrategias terapéuticas dirigidas al tratamiento y la prevención de la ND, entre otras el control glicémico intensivo (94), los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAs) (56), los antioxidantes (46) y los inhibidores de los AGEs y de otras vías metabólicas como los isómeros específicos de la PKC y de la aldolasa reductasa (formación de polialcoholes).

#### **a) Factores de crecimiento**

Entre los factores de crecimiento, el VEGF, bien relacionado con la génesis de la RD (neovascularización retiniana), está siendo objeto de investigación clínica con relación al desarrollo de la ND (18, 79). Algunos datos recientes muestran que el VEGF está aumentado en diabéticos prepuberales y puberales frente a los controles sanos. En adolescentes, el VEGF es mayor en los que tienen complicaciones

microangiopáticas que en los que no las presentan. Asimismo se ha comprobado correlación entre VEGF y el control glicémico (HbA1c), y con la gravedad de las complicaciones. Por último, el seguimiento desde la infancia de los valores de VEGF en 101 diabéticos, parece señalarlo como un predictor de MA y de ND incipiente en la adolescencia (seguimiento de 10 años), ya que la persistencia del aumento de VEGF en pacientes DM 1 normotensos y normoalbuminúricos puede ayudar a identificar a aquellos que van a estar más predispuestos a desarrollar MA posteriormente.

### **b) Oxido nítrico**

Se sabe que la activación de su síntesis y de su acción, sería el mecanismo bioquímico responsable de la HF y del aumento de la permeabilidad vascular (67,169, 284, 338). En 30 adolescentes DM 1 y jóvenes adultos con y sin MA, se ha demostrado un aumento de NO y del FG en el grupo con MA correlacionándose con la excreción de albúmina. Las concentraciones de NO se correlacionan positivamente con la HbA1c, sugiriendo que la hiperglucemia crónica activa los mecanismos de generación /activación del NO (67).

### **c) Productos terminales de la glicosilación (AGE)**

Los AGEs son un grupo diverso de moléculas (2), producto de la glicosilación no enzimática, que es una reacción química espontánea entre los azúcares y los grupo amino de las proteínas en la que se forman bases Schiff reversibles y otros más estables (Amadori).





Las consecuencias de la producción de AGEs y su significación clínica en la ND han sido revisadas recientemente. En adultos se ha comprobado un aumento de los AGEs plasmáticos y de la piel que se correlaciona con el mal control glicémico. Asimismo, los AGEs plasmáticos han sido un mejor predictor de la progresión de los cambios morfológicos precoces de la ND que la HbA1c. En niños y adolescentes diabéticos los AGEs plasmáticos se encuentran elevados frente a la población sana de edad similar, y están más elevados en adolescentes con alguna complicación microvascular en edades tempranas, incluida la MA, correlacionándose de forma positiva con el control glicémico (HbA1c), independientemente del nivel de EUA y de la PA, destacándose como posibles predictores de complicaciones microvasculares precoces.

En pacientes adultos DM 1 se ha demostrado un aumento de la producción de radicales superóxido en el suero paralelo al mal control glicémico (HbA1c), peroxidación de lípidos, incremento de AGEs, de productos de oxidación de proteínas (estrés carbonílico) y lesión de ácidos nucleicos, junto a una disminución de las concentraciones eritrocitarias de enzimas antioxidantes (179).

#### **d) Marcadores de estrés oxidativo**

Muchos datos en humanos sugieren que el EO está elevado en pacientes con diabetes mellitus (60, 78, 100, 112, 127, 135, 138, 141, 221, 293, 368). En niños diabéticos no existen muchos datos de EO y de su relación con la ND incipiente y otras complicaciones subclínicas y actualmente, no está definido el valor predictivo del incremento sostenido de estas moléculas sobre el desarrollo posterior de ND.

#### ***Peroxidación lipídica***

La peroxidación del ácido araquidónico induce vasoconstricción renal ya que produce un aumento en plasma de 8-epi-prostaglandin-F2a y de otros F<sub>2</sub> isoprostanos que son potentes vasoconstrictores renales (25). En una población de

indios *Asian*, la concentración plasmática de este isoprostano aumentaba progresivamente a medida que se inducían anomalías en el metabolismo de la glucosa, siendo máximo en el caso de diabetes mellitus establecida.

La peroxidación lipídica puede ser medida indirectamente por la determinación de la concentración de TBARS o directamente por la medida de malondialdehído (MDA) (92, 117). En pacientes con diabetes tipo 2, tanto los TBARS como el MDA están elevados en plasma cuando se comparan con sujetos controles no diabéticos (128), correlacionándose negativamente con la función endotelial medida por el flujo arterial braquial, lo que sugiere una interacción entre la presencia de EO y la disfunción vascular.

### ***Daño a proteínas***

Las proteínas pueden sufrir una oxidación de sus aminoácidos más sensibles a ella, como son la cisteína, el triptófano, la valina, la fenilalanina o la metionina. Las proteínas sufren una glicosilación no covalente por acción de los radicales de glucosa o del ascorbato en presencia de metales de transición.

En la práctica, la medida de los aldehídos formados de las proteínas (grupos carbonilo) se realiza por la reacción con dinitrofenil hidracina (DNPH). Los grupos tiol no oxidados pueden ser medidos por el reactivo de Ellman (ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico) que confiere una coloración amarilla con los residuos de cistina. Es posible también medir por HPLC y detección colorimétrica los aminoácidos modificados de proteínas séricas: hidroxivalina, orto-hidroxitirosina, bitirosina, nitrotirosina.

### ***Daño oxidativo del DNA***

Un marcador de la oxidación del DNA (92), la base modificada 8-hidroxideoguanosina, se ha encontrado 4 veces más elevado en las células mononucleadas de sujetos con DM tipo 1 y 2 que en controles. De la misma forma,

la excreción urinaria de 8-hidroxideoguanosina se ha mostrado más alta en sujetos con DM tipo 2 que en sujetos control (91,139).

### ***Respuesta antioxidante***

Los enzimas antioxidantes (SOD, catalasa, GPx) y los sistemas no enzimáticos (Vit E, Vit C, GSH) juegan un papel crítico en el balance redox celular (92). Distintos estudios han demostrado tanto aumento como descenso (128) en la actividad antioxidante en sujetos diabéticos cuando se comparan con sujetos sanos. El GSH,  $\alpha$ -tocoferol y el ácido ascórbico también pueden estar disminuidos en pacientes diabéticos. Estos resultados contradictorios muestran la complejidad de las reacciones de oxidación-reducción en pacientes con metabolismo de la glucosa normal o alterado.

### **I.2.5.7. Otros marcadores**

Colágeno tipo IV urinario. Se ha referido su aumento en pacientes adultos con ND incipiente y clínicamente establecida, frente a controles sanos. La excreción urinaria aumentada se correlaciona con la MA, siendo mayor en caso de macroproteinuria (>200 mg/día). Por el contrario la eliminación urinaria fue similar a los sujetos sanos en pacientes DM 1 normoalbuminúricos y en HTA primaria. Los autores consideran al colágeno tipo IV como un marcador sensible de ND incipiente.

## **1.2.6. TRATAMIENTO DE LA NEFROPATIA DIABETICA INCIPIENTE**

### **1.2.6.1. Recomendaciones actuales**

El manejo de la ND incluye un estricto control glicémico, recomendaciones dietéticas específicas, cambios en el estilo de vida en adolescentes y jóvenes (no alcohol ni tabaco) y un programa de ejercicio físico adecuado. El DCCT y otras investigaciones confirman que el control glicémico estricto, reduce la MA y el inicio de la nefropatía. Esto conlleva que normalizando el estado metabólico, se limita el daño vascular en pacientes con diabetes. Con la conveniente monitorización domiciliaria de la glucosa, el control de la HbA1c, el uso de insulinas rápidas y de las bombas de insulina, no hay razones (por parte del paciente o del médico) que impidan un control adecuado y estable de la glucosa. A este planteamiento se atribuye la disminución observada de la incidencia de ND en adolescentes y adultos jóvenes con DM 1. En relación a la PA, esta debe ajustarse al percentil 90 para la edad. En los pacientes con DM 1 y MA, incluso si la PA es normal, los IECA solos o asociados a otros antihipertensivos pueden enlentecer el incremento de la albuminuria. No obstante, el conocimiento actual de la patogenia de la microangiopatía diabética, con el reconocimiento de alteraciones metabólicas que inducen el daño vascular, permiten sugerir planteamientos adicionales a los anteriores con el fin de disminuir el riesgo de aparición o retrasar la progresión de la ND y otras complicaciones de la microangiopatía.

### **1.2.6.2. Estrategias terapéuticas para reducir el estrés oxidativo en la ND.**

#### **1.2.6.2.1 Restricción de sodio, ejercicio y control de peso**

Estudios clínicos argumentan que terapias no farmacológicas incluyendo dieta y ejercicio pueden reducir efectivamente la carga del EO. Un ensayo durante 3 semanas en varones obesos evaluó el efecto de una dieta baja en grasa, rica en fibra junto con ejercicio diario, sobre los marcadores metabólicos y de EO. Al finalizar el período de tratamiento, los sujetos redujeron significativamente el EO medido por la reducción en suero de 8-epi prostaglandin 2 $\alpha$  y el incremento en la excreción urinaria de metabolitos del óxido nítrico. Estos hallazgos ocurren en conjunción con

una mejora de los marcadores metabólicos como resistencia insulínica, PA, hiperlipidemia y el IMC e ilustra la rápida mejoría en el tiempo en los parámetros de EO después de una modificación en el estilo de vida.

La ingesta aumentada de Na en la dieta incrementa el EO en vasos sanguíneos de riñones de animales. Además, en animales susceptibles la generación de TGF- $\beta$  está aumentada y el óxido nítrico no se incrementa proporcionalmente en respuesta al sodio alto de la dieta. Así la restricción en la ingesta de sodio puede ser una estrategia atractiva para prevenir o limitar la progresión de fibrosis glomerular en pacientes con diabetes mellitus (229).

#### **I.2.6.2.2 Enzima convertidora de Angiotensina y antagonistas del receptor de la angiotensina II**

Ensayos clínicos a largo plazo, controlados y randomizados, han demostrado que los IECA (1, 57, 65, 102, 202) y los antagonistas del receptor de la angiotensina II (43, 273) son beneficiosos en la reducción de la albuminuria y la progresión del daño renal en pacientes con ND (336). Así mismo, los IECA han mostrado efectos favorables con respecto a la enfermedad macrovascular en población de alto riesgo como son los pacientes con diabetes (189, 304). Estos beneficios son independientes del efecto disminuidor de la PA de los IECA y de los bloqueantes del receptor de la angiotensina II (57, 59, 201, 272).

Por otra parte, estudios en cultivos celulares revelan que la angiotensina II activa la producción de anión superóxido inducido por la NADPH oxidasa (69, 216, 365). Además las subunidades proteicas de la NADPH oxidasa están subreguladas en modelos animales diabéticos y se correlacionan con la disfunción vascular y la disminución de la vasodilatación dependiente del endotelio.

Estudios en humanos revelan que la terapéutica con bloqueantes de la angiotensina II después de los IECA, en sujetos con enfermedad renal crónica y proteinuria, disminuye la oxidación de albúmina urinaria y peroxidación lipídica

medida por el MDA. En efecto, la inhibición de la generación de anión superóxido por reducción de la actividad de la NADPH oxidasa estimulada por la angiotensina ilustra un mecanismo de los IECA y de los bloqueantes de receptores de angiotensina en la generación de EO y disfunción vascular asociada (14, 98, 272).

### **I.2.6.2.3 Inhibidores de la HMG-CoA reductasa**

Los inhibidores de la 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa (HMGCoA-reductasa), o estatinas, parecen tener numerosos efectos beneficiosos sobre la función vascular que son independientes de la reducción del colesterol (328, 361).

Las estatinas interfieren con la proliferación de las células mesangiales, un dato precoz de la ND, en células humanas cultivadas, e interfieren con la esclerosis mesangial inducida por citocinas en modelos animales de ND. Estos efectos beneficiosos en parte pueden ser atribuidos a la reducción del EO inducido por estatinas. Estudios en cultivos celulares revelan que las estatinas disminuyen la generación de superóxido endotelial asociado a la NADPH oxidasa, reduciendo de este modo el impacto sobre la vascularización. Además, estudios en animales sugieren que las estatinas pueden mejorar el intercambio de radicales libres, del antioxidante glutatión y del ácido ascórbico. El análisis de partículas de LDL colesterol (LDL-c) de sujetos con hipercolesterolemia familiar revela que el contenido de Vit E contenida en partículas de LDL-c se incrementa después de 1-2 meses de terapia con pravastatina. En consecuencia, las estatinas reducen el EO a través de diversos mecanismos.

Estos estudios preclínicos han llevado a evaluar los efectos favorables de las estatinas en sujetos con ND. Y así, concomitantemente con la reducción de colesterol los pacientes hiperlipidémicos con DM tipo 2 con MA mostraban un descenso significativo en la excreción de albúmina con el tratamiento con estatinas. Además un tratamiento con estatinas en sujetos hiperlipémicos con DM tipo 2 mostró

reducción en la generación del EO inducido por la hiperglucemia y comida rica en ácidos grasos, sugiriendo una inhibición directa.

#### **I.2.6.2.4 Vitamina E**

La Vit E o  $\alpha$ -tocoferol es un compuesto fenólico liposoluble sintetizado en plantas y en algunas bacterias fotosintéticas. Existen 4 tocoferoles,  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -, siendo el  $\alpha$ -tocoferol el más importante para la salud en el ser humano. Tiene un papel bioquímico importante como barredor de oxidantes o protector de la lipoperoxidación (75, 282).

La Vit E es un componente estructural importante de las membranas biológicas que interacciona con los fosfolípidos de la membrana y protege de la peroxidación a los ácidos grasos poliinsaturados. En general es un excelente inhibidor de la peroxidación lipídica.

Muchos datos en estudios animales sugieren que la Vit E puede tener efectos favorables sobre el EO y la ND. La suplementación con Vit E normaliza la HF (180), reduce la tasa de excreción de albúmina (180), reduce las especies reactivas de oxígeno glomerular y reduce la expresión de la citocina inflamatoria TGF- $\beta$  en modelos animales de ND.

Además, estudios en animales revelan que la elevada peroxidación lipídica sistémica y renal determinada mediante los niveles urinarios y plasmáticos de E-isoprostanos, disminuye significativamente en respuesta a la suplementación con Vit E.

Otros estudios clínicos sugieren que la suplementación con Vit E puede mejorar la vasodilatación dependiente del endotelio en la DM tipo1 (70), incrementando los niveles sanguíneos de glutatión y descendiendo la concentración plasmática de peroxidación lipídica en DM tipo 2. Sin embargo, la mejora en estos parámetros de EO no tienen beneficio con respecto a la enfermedad macrovascular

aterosclerótica. Queda por ver si estos agentes pueden ser utilizados en la microangiopatía de la diabetes mellitus (17, 25).

#### **I.2.6.2.5 Vitamina C**

La Vit C es un antioxidante hidrosoluble importante, considerado como uno de los principales antioxidantes dietéticos (45).

La Vit C elimina de un modo efectivo las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno tales como: radical superóxido e hidroperoxilo, oxígeno singlete, ozono, peroxinitrito, dióxido nitrógeno y ácido hipoclorico. Asimismo, la Vit C puede actuar como coantioxidante, regenerando el  $\alpha$ -tocoferol del radical  $\alpha$ -tocoferoxil producido en la eliminación de radicales liposolubles.

Los estudios clínicos que valoran el efecto de la Vit C en la ND se han limitado a ciertos marcadores de EO y han tenido resultados variables (153). La excreción urinaria de 8-epi-prostaglandin  $2\alpha$  no se ha modificado tras tres semanas de administración oral de Vit C en sujetos con DM tipo2. La función endotelial medida por la mejora del flujo sanguíneo en antebrazo después de la administración oral o intravenosa de Vit C en sujetos con diabetes mellitus, destaca la disfunción vascular mediada por los RLO en la diabetes mellitus.

#### **I.2.6.2.6 Acido $\alpha$ -lipoico**

El ácido  $\alpha$ -lipoico (ALA) también conocido como ácido tióctico, es un cofactor del piruvato y otras deshidrogenasas. El ALA posee actividad antioxidante, habilidad para limpiar radicales libres y participar en la regeneración de glutatión, Vit E y Vit C. Datos en animales y humanos sugieren que el ALA puede ser beneficioso en pacientes con ND (271).



En un modelo animal de ND, utilizando homogeneizados de la cortical renal, y tras 3 semanas de suplementación con ácido dihidrolipoico, la forma reducida del ALA, se aprecia una disminución de la peroxidación lipídica medida por el MDA, 4-hidroxiacetaldehído y F<sub>2</sub> isoprostanos, cuando se compara con ratas control (361). Además, el descenso del contenido en glutatión y Vit C y el incremento de la actividad de la NADPH oxidasa en la cortical renal de ratas diabéticas se corrigió tras la administración de ácido dihidrolipoico. Otros estudios han mostrado de forma similar que la suplementación con ALA conduce a una disminución de la expansión de la matriz mesangial, la glomerulosclerosis y el contenido de MDA en los animales tratados *versus* ratas control.

Estudios clínicos sugieren que pacientes con DM que reciben suplementación con ALA tienen una mejoría en los marcadores de EO. De este modo un tratamiento de choque (3 días) con ALA en pacientes con DM da lugar a una menor actividad periférica del NFκB. Mientras que el aporte a largo plazo (3 meses) con una dosis de 600 mg/día está asociado con menor peroxidación lipídica a nivel sistémico que en pacientes no tratados, siendo este efecto independientemente del grado de albuminuria (361).

#### **I.2.6.2.7 N-acetilcisteína**

La N-acetilcisteína (NAC) es un antioxidante oral de efectos reconocidos en la intoxicación por paracetamol y más recientemente en el fallo renal agudo inducido por radio-contraste. La NAC se ha evaluado en algunos estudios de EO y ND. En modelos animales de ND, la administración de NAC ha mostrado mejoría en la glicoxidación y lipoxidación. En pacientes con enfermedad crónica renal y anemia, la administración de NAC con hierro iv se asoció a una disminución significativa de la peroxidación lipídica determinada mediante MDA en plasma y orina. Estos hallazgos sugieren que la NAC merece otras evaluaciones como terapia antioxidante en pacientes con ND (361).

En resumen, el mejor conocimiento de los cambios renales en la fases iniciales de la enfermedad y la investigación temprana de marcadores precoces de daño renal (EO,AGEs...), pueden proporcionar claves para un diagnóstico precoz de lesión renal, permitiendo la instauración temprana de las medidas terapéuticas ya conocidas (dieta adecuada para un control glicémico estricto, restricción proteica (80), régimen insulínico adecuado, control de peso, ejercicio físico) o bien posibilitando la investigación de otras opciones (antioxidantes, IECA...) que evitaren su instauración y/o progresión.

## **II. HIPÓTESIS**

## **II. HIPÓTESIS.**

Múltiples contribuciones científicas relacionan las complicaciones tardías de la DM 1 con un aumento de RLO y daño oxidativo. Los datos procedentes de niños diabéticos son escasos, a pesar de que constituye un grupo etario de particular interés, especialmente por la corta evolución de la enfermedad y la presencia de cambios metabólicos manifiestos durante la pubertad.

El conocimiento tradicional sustentaba la benignidad de la diabetes infantil en relación a la frecuencia de complicaciones tardías. Hoy se conocen mejor las manifestaciones subclínicas de la enfermedad microvascular, en virtud de la vigilancia periódica de la MA, de la tasa de filtración glomerular, las alteraciones retinianas incipientes, y la afectación de la velocidad de conducción en nervio periférico.

El control glicémico estricto se relaciona con una menor frecuencia de complicaciones tardías en el adulto, y con un retraso en la aparición de signos incipientes de microangiopatía. Sin embargo, a pesar de alcanzar un control glicémico satisfactorio, estas complicaciones continúan presentándose aunque más tardíamente.

En relación a la ND, se ha considerado la nefromegalia y la HF como las alteraciones iniciales tras el debut diabético, sin evidencia de alteraciones histopatológicas.

Datos morfométricos recientes en adultos DM 1 de corta evolución y normoalbuminúricos, señalan un incremento del grosor de la membrana basal glomerular y del volumen fraccional del mesangio y matriz mesangial. La frecuencia de estas anomalías incrementa con la duración de la diabetes pero son observadas transcurridos de 2 a 8 años del inicio de la enfermedad.

En adultos y niños se ha referido la presencia de EO (lipoperoxidación y formación de grupos carbonilo) en etapas precoces de la enfermedad, como uno de los mecanismos patogénicos en el desarrollo de la microangiopatía, dependiente del grado de control metabólico.

La hipótesis que se plantea en esta memoria es, en niños y adolescentes con diabetes mellitus tipo 1 y aceptable control metabólico, hay un incremento del estrés oxidativo que influye sobre las variaciones de la tasa de filtración glomerular, específicamente en la hiperfiltración, y por tanto en la progresión de la enfermedad.

### **III. OBJETIVOS**

### **III. OBJETIVOS DEL ESTUDIO**

Analizar el daño oxidativo a macromoléculas en niños y adolescentes diabéticos, determinado por:

- Productos de daño oxidativo a lípidos
  - Sustancias reactivas con el ácido tiobarbitúrico (MDA)
- Productos de daño oxidativo a proteínas
  - Grupos carbonilo

Determinar la relación existente entre el daño oxidativo y el grado de control metabólico y otras variables clínicas en los pacientes con DM 1.

Analizar la existencia de hiperfiltración renal, mediante el aclaramiento de creatinina, como indicador precoz de disfunción renal en la DM 1

Analizar la relación entre los parámetros del estrés oxidativo y la hiperfiltración renal.

## **IV. METODOLOGÍA**



## **IV.METODOLOGIA**

### **IV.1. Diseño del estudio**

Estudio transversal descriptivo de marcadores de daño oxidativo en niños y adolescentes diagnosticados de diabetes mellitus insulino-dependiente.

### **IV.2. Pacientes y controles**

El estudio se ha realizado en un grupo de niños y adolescentes diagnosticados de DM 1 con edades comprendidas entre 2 y 14 años en el debut de la enfermedad y atendidos en la Unidad de Diabetes Infantil y Juvenil del Servicio de Pediatría del Hospital Universitario Dr. Peset.

Dado que se desconoce la incidencia real de las alteraciones del estrés oxidativo en niños y adolescentes, el tamaño muestral del grupo de estudio se establece entre 25 y 30, similar a otros estudios en pacientes adultos referidos en la bibliografía.

Los pacientes incluidos (n=29) son elegidos de una cohorte total de 45 pacientes diagnosticados de DM 1. El tiempo de evolución de la enfermedad oscila entre 1 y 10 años por lo que la edad de estudio de los pacientes ha oscilado entre los 3 y 19 años. El grupo de pacientes seleccionados cumplieron los siguientes criterios:

- Velocidad de crecimiento y desarrollo puberal, normales.
- PA casual, normal: estimada como la media de tres mediciones de la PA obtenida en brazo derecho, después de 5 minutos de reposo, en posición sentada y utilizando un equipo automático (Critikon, Tampa, FL).
- Seguimiento adecuado de la enfermedad durante el año anterior: al menos 4 controles clínicos y analíticos según la pauta establecida en la Unidad de Diabetes Infantil y Juvenil del Hospital.

- Muestra de orina de 24 horas adecuada, considerando la excreción urinaria de creatinina (intervalo normal de 15 a 20 mg/kg/día).
- Concentración de HbA1c  $\leq$  9% en el momento del estudio.
- No recibir tratamiento antihipertensivo.
- Ausencia de episodios de CAD en el año precedente.
- No enfermedades endocrinológicas asociadas.
- Aceptación de participación (consentimiento informado) por los mayores de 12 años y los padres o tutores.

El grupo control lo conforma un grupo de 13 niños y adolescentes sin patología nutricional, endocrino-metabólica ni renal, con distribución etaria y de género similar al grupo de estudio, seleccionados entre pacientes de la Consulta Externa (Nefrología, Gastroenterología...) del Servicio de Pediatría del Hospital Universitario Dr. Peset.

### **IV.3. Distribución por grupos**

Los pacientes se distribuyeron en subgrupos: 1) en función del grado de control metabólico, medido por el % de HbA1c, y 2) en función de la presencia o no de HF, expresado como CCr (ml/min/1,73m<sup>2</sup>):

Grupo control (GC); n=13

Grupo de pacientes (G); n=29

1) En función del grado metabólico:

Grupo 1 (G-1): HbA1c  $\leq$  7,0% (n=9)

Grupo 2 (G-2): HbA1c 7,1-8,0% (n=11)

Grupo 3 (G-3): HbA1c  $> 8-\leq 9\%$  (n=9)

2) En función de la presencia o no de hiperfiltración:

Grupo No HF: CCr  $< 150$  ml/min/1,73m<sup>2</sup> (n=14)

Grupo HF: CCr  $\geq 150$  ml /min/1,73m<sup>2</sup> (n=15)

Se estimó que al menos 10 pacientes por grupo eran necesarios para detectar con una potencia del 80%, variaciones del CCr superiores o inferiores a 150 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> con un nivel de significación estadística de 0,05 (two-tailed).

#### **IV.4. Obtención de datos clínicos y metabólicos**

##### **IV.4.1. Referidos al año previo al estudio**

En todos los pacientes incluidos, durante el año anterior a la entrada en el estudio, se disponía de:

- Diario de diabético:
  - o Glucemia digital (3-6 veces / día)
  - o Registro de insulino terapia: dosis diaria (UI/kg), pauta de administración (2-4/día) y tipo de insulina.
  - o Registro de incidencias diarias (hipoglucemias sintomáticas/asintomáticas, cetonuria)
  
- Controles clínicos periódicos:
  - o Crecimiento (trimestral): gráficas percentiladas de peso y talla en relación con la edad (Hernández.M, 1988) (140).
  - o Desarrollo puberal: gráficas de desarrollo puberal de Tanner.
  - o Tensión arterial (trimestral): gráficas percentiladas de tensión arterial en relación con edad/talla (Task Force, 2004) (252).
  
- Control metabólico:
  - o Colesterol y Triglicéridos (trimestral)
  - o Hemoglobina glicosilada (HbA1c) (trimestral)
  
- Control de enfermedad secundaria:
  - o Retinopatía:

- Fondo de ojo (anual), por el Servicio de Oftalmología del Hospital Universitario Dr. Peset
  - Neuropatía:
    - Velocidad de conducción (1-2 años), por el Servicio de Neurofisiología Clínica del Hospital Universitario Dr. Peset.
  - Nefropatía:
    - Creatinina sérica y Filtrado glomerular estimado (trimestral)
    - Aclaramiento de creatinina (6-12 meses)
    - Microalbuminuria (6-12 meses)
    - Macroproteinuria (6-12 meses)
- Control de enfermedades asociadas:
  - TSH y T<sub>4</sub> (anual)
  - Anticuerpos antitransglutaminasa (al debut)
- Registro de complicaciones agudas:
  - Cetoacidosis diabética
  - Hipoglucemia grave

#### **IV.4.2. En el momento del estudio**

En el momento del estudio se obtienen en todos los pacientes incluidos:

- Datos clínicos
  - Peso (kg) (Báscula clínica con precisión de 100g, Anyó-Sanol<sup>®</sup>)
  - Talla (cm) (Estadiómetro vertical, precisión 1mm, Anyó-Sanol<sup>®</sup>)
  - PA (mmHg) (Critkon, Tampa, FL)
  - Estadio puberal (Tablas de Tanner)
- Parámetros metabólicos
  - Sangre
    - Creatinina/urea (mg/dl)

- Colesterol y fracciones (mg/dl)
  - Triglicéridos (mg/dl)
  - Hb (gr/dl)
  - HbA1c (%)
  - Proteínas totales y albúmina (g/dl)
- Orina
    - Filtrado glomerular (ml/min/1,73 m<sup>2</sup>)
    - Microalbuminuria (mg/g creatinina)
    - Proteinuria (mg/g creatinina)
- Parámetros de estrés oxidativo
    - Defensa antioxidante
      - Glutation peroxidasa (GPx) (U/gHb)
      - Glutation reducido (GSH)( $\mu$ mol/gHb)
      - $\alpha$ -tocoferol (nmol/g C+Tg)
      - $\beta$ -caroteno (nmol/ml)
    - Daño oxidativo a macromoléculas
      - Lípidos: MDA (nmol/ml)
      - Proteínas: Grupo carbonilo (nmol/ mg proteína)

#### **IV.5. Métodos analíticos en sangre y orina**

Las determinaciones se realizaron en los Servicios de Hematología y Bioquímica del Hospital Universitario Dr. Peset.

##### **Colesterol**

Técnica enzimática. Los ésteres de colesterol se hidrolizan enzimáticamente por la colesterol esterasa en colesterol y ácidos grasos. El colesterol libre se oxida

por la colesterol oxidasa a colest-4-en-3-ona y peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno se combina con el ácido hidroxibenzoico y la 4-aminoantipirina para formar un cromóforo (colorante de quinoneimina), el cual se mide a 500 nm. (Aeroset-Abbott®)

### **Triglicéridos**

Técnica enzimática. La lipasa hidroliza enzimáticamente los triglicéridos para liberar ácidos grasos y glicerol. El trifosfato de adenosina (ATP) fosforila el glicerol con glicerol cinasa (GK) para producir glicerol-3-fosfato y difosfato de adenosina (ADP). La gliceril fosfato oxidasa (GPO) oxida el gliceril-3-fosfato a dihidroxiacetona fosfato (DAP) produciendo peróxido de hidrógeno  $H_2O_2$ , reacciona con 4 aminoantipirina (4-AAP) y 4-clorofenol (4-CP) para formar un compuesto rojo coloreado. La absorbancia de este compuesto coloreado es proporcional a la concentración de triglicéridos presente en la muestra (Aeroset-Abbott®)

### **Creatinina suero y orina**

Método cinético a un pH alcalino, la creatinina presente en la muestra reacciona con el picrato para formar un complejo de creatinina-picrato. La tasa de incremento en la absorbancia a 500 nm, debida a la formación del complejo, es directamente proporcional a la concentración de creatinina (Aeroset-Abbott®).

### **Microalbuminuria**

Prueba turbidimétrica mediante la cual la albúmina de la muestra se combina con anticuerpos anti-albúmina humana formando agregados insolubles que causan un aumento de la turbidez en la solución, que es proporcional a la concentración de albúmina en la muestra, y que se puede medir ópticamente (Aeroset-Abbott®).

### **Proteínas en orina**

Procedimiento turbidimétrico en el que se utiliza el cloruro de bencetonio como agente desnaturizante de las proteínas. El cloruro de bencetonio desnatura las proteínas presentes en la orina, dando como resultado la formación de una suspensión fina que se determina turbidimétricamente a 404 nm (Aeroset-Abbott®).

### **Hemoglobina Glicosilada (HbA1c)**

Cromatografía de intercambio catiónico en fase reversa. Detección por colorimetría o doble longitud de onda.

## **IV.6. Parámetros bioquímicos y métodos analíticos del estrés oxidativo.**

Las determinaciones se realizaron en el Laboratorio del Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología de la Facultad de Medicina y Odontología de Valencia.

### **Tratamiento de la sangre**

El tratamiento de la sangre se llevó a cabo según en método de Maral y cols. (211): se tomaron 5 ml de sangre heparinizada y se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante (plasma), se guardó para determinar posteriormente los grupos carbonilo (GC), las sustancias procedentes de la peroxidación lipídica que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico (TBARS), el  $\alpha$ -tocoferol y el  $\beta$ -caroteno. Al *pellet* (eritrocitos) se le añadió la misma cantidad de agua (grado MilliQ), se agitó y dejó durante dos horas en nevera (4°C) para producir la lisis. Una vez transcurrido el tiempo se determinó la hemoglobina y la GPx.

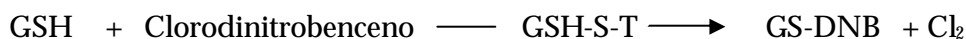
Se tomó una cantidad de lisado al cual se añadió una mezcla de cloroformo:etanol (3:5 v/v) y una cantidad de agua para precipitar la hemoglobina, a continuación se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos y del sobrenadante se determinaron los niveles de GSH.

### **Determinación de la glutathion peroxidasa**

La GPx fue determinada según el método de Gunzler and Flohé (134): el lisado se diluyó a una concentración de 5 g Hb/100ml y posteriormente se añadió una disolución de 0,03 g de ferrocianuro potásico y 0,01 g de cianuro potásico en 100 ml de tampón fosfato potásico 0,1 M a pH 7,0. La actividad de la GPx fue determinada espectrofotométricamente midiendo la conversión de GHS y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 340 nm.

### **Determinación del GSH**

El Glutation fue determinado según la técnica de Brigelius et al, 1983 (47).



El GSH reacciona con el clorodinitrobenzenceno, reacción catalizada por la glutathion transferasa, y forma un complejo que absorbe a 340 nm. El incremento de absorbancia es proporcional a la concentración de glutathion.

### **Determinación de los grupos carbonilo de las proteínas**

Los grupos carbonilo fueron determinados mediante la técnica de Levine y cols. (199), en la que a 0,2 ml de plasma se le añaden 0,4 ml de dinitrofenilhidracina 10 mM. Posteriormente la mezcla se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación. Se añade tricloroacético al 20 % y se realizan diferentes lavados con etanol:acetato de etilo (1:1 v/v). Finalmente se añade 1 ml de guanidina, se incubó durante 30 minutos a 37°C y se mide espectrofotométricamente a 373 nm.



### **Determinación de la peroxidación lipídica**

Para determinar los productos procedentes de la peroxidación lipídica que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico se siguió la técnica de Santos y cols. (311B). Se tomó 0,1 ml de plasma, se añadió 0,45 ml de solución salina al 0,9 %, luego se añadió 1 ml de tricloroacético 100 % en ClH 0,6 n y 0,2 ml de ácido tiobarbitúrico 0,12 M en Tris 0,26 M. Se incubó en un baño hasta ebullición, se dejó enfriar y posteriormente se leyó su absorbancia a 532 nm.

### **Determinación del $\alpha$ - tocoferol y $\beta$ -caroteno**

La determinación del  $\alpha$ - tocoferol y  $\beta$ -caroteno se realizó mediante la técnica de Arnaud y cols. (13). A 100  $\mu$ l de etanol al 100 % y 100  $\mu$ l de etanol conteniendo el patrón interno se añadió 200  $\mu$ l de suero y se agitó durante 5 segundos. Posteriormente se añadieron 500  $\mu$ l de hexano para extraer las vitaminas, se agitó durante 2 minutos y se centrifugó a 3000 rpm durante 5 minutos. 250  $\mu$ l de la fase hexano se transfirieron a un tubo de cristal, protegido de la luz, y se evaporó con nitrógeno. El residuo se disolvió con 200  $\mu$ l de fase móvil (Acetonitrilo: diclorometano: metanol 70: 20: 10 v/v/v) se mezcló durante 2 minutos. Finalmente se inyectan 50  $\mu$ l al HPLC. Condiciones del Cromatógrafo (Kontron Instruments): Se utilizó una columna Ultrasphere ODS (5  $\mu$ m) (15 cm x 0,46 cm I.D.) de Teknocroma, la velocidad de elución fue de 1,0 ml/ min y se midió espectrofotométricamente a 291 nm para el  $\alpha$ - tocoferol y a 450 nm para el  $\beta$ -caroteno.

### **Determinación de proteínas**

La determinación de proteínas se llevó a cabo mediante la técnica de Markwell y cols. (214), una modificación de la técnica de Lowry (1951). La técnica modificada nos evita el tratamiento con NaOH, al ser simplificado por la adición de dodecilsulfato de sodio al 1%. La técnica se basa en la formación de un compuesto coloreado al interaccionar el reactivo de Folin con los grupos fenólicos o endólicos

de los aminoácidos integrantes de las proteínas. Se utilizaron de 10-50 µl de plasma, a los cuales se les añadió 400 µl de agua y 1,2 ml de solución C, tras incubar 45 minutos a temperatura ambiente, se añadieron 60 µl del reactivo de Folin y se prosiguió la incubación otros 45 minutos en las mismas condiciones, finalmente se lee la absorbancia a 660 nm.

### **Determinación de la Hemoglobina**

Para la determinación de la hemoglobina se utilizó el reactivo de Drabkins (Sigma Chemical, Co). Se diluyó un vial de reactivo Drabkins en 1 litro de agua, a esta solución se añaden 0,5 ml de la solución de Brij al 30 %. A 20 µl de muestra se añadió 5 ml de la solución anteriormente preparada, se incubó durante 15 minutos a temperatura ambiente y finalmente se determinó la absorbancia a 540 nm.

#### **IV.7. Evaluación del estado nutricional en el momento del estudio.**

- Valoración clínica: parámetros e índices antropométricos (peso, talla, pliegues cutáneos).
  - Parámetros antropométricos
    - Peso y talla (percentiles y Z-score)
    - Índice de masa corporal:  $\text{peso}/\text{talla}^2$  (percentiles y Z-score).
  - Exploración clínica completa.
  
- Valoración bioquímica:
  - Hemoglobina sanguínea
  - Proteínas totales y albúmina sérica.
  - Perfil lipídico sérico: colesterol, HDL, LDL, VLDL y triglicéridos.
  - Urea y creatinina séricas.
  - Excreción urinaria diaria de creatinina

#### **IV.8. Métodos estadísticos**

Se utilizó:

- El análisis de la varianza (ANOVA) para la comparación entre 3 o más grupos. El test de Levene se utilizó como indicador de la homogeneidad de las varianzas en cada grupo y se empleó la corrección de Bonferroni para las diferencias entre grupos de varianzas similares y la de Dunnett para varianzas no homogéneas, aplicándose un nivel de significación estadística  $p < 0,05$
- Parámetros de estadística descriptiva para caracterización de los grupos de estudio (estadísticos centrales y de dispersión)
- Análisis de varianza, t-Student y test no paramétricos para comparación de variables entre grupos.
- Análisis multivariante y de regresión múltiple para la identificación de factores de riesgo de estrés oxidativo y complicaciones.
- El paquete estadístico SPSS-11 (Licencia Universidad de Valencia).

## **V. RESULTADOS**

## V. RESULTADOS

En el apartado de Anexos, se incluyen las distintas variables clínicas, epidemiológicas, bioquímicas y de EO, analizadas en el grupo de niños incluidos en este estudio.

### V.1. Características del grupo control

El grupo control (GC) estuvo constituido por 13 pacientes (8 varones) con una edad media de 11,49 años (intervalo 6-16 años); sus características demográficas y clínicas se refieren en la tabla 4.

**Tabla 4.-** Características demográficas y clínicas del grupo control

<b>Variable</b>	<b>n</b>	<b>Mediana</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
Sexo (varón)	8					
Edad (años)	13	12,37	11,49	3,08	6	16
Estadio puberal (Tanner)	13	3			1	4
Peso (kg)	13	47,40	42,62	15,51	17,50	68,50
Talla (cm)	13	150,80	144,77	21,78	97,20	171,50
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	13	19,23	19,52	2,39	16,11	24,77
S.C. (m <sup>2</sup> )	13	1,42	1,30	0,33	0,68	1,76
PA sistólica (mmHg)	13	112	114,31	13,79	92	130
PA diastólica (mmHg)	13	62	63,77	6,91	52	73

Los diagnósticos en el grupo control fueron: dolor abdominal inespecífico (5 casos), otitis media de repetición (1 caso), dispepsia gástrica (1 caso), reflujo vesicoureteral leve sin afectación renal (1 caso), asma alérgico leve (1 caso), dolor osteomuscular (1 caso), glucosuria renal (1 caso), hipercalciuria idiopática (1 caso) y traumatismo leve (1 caso).

Todos los niños tuvieron una exploración clínica normal y unos valores de PA adecuados para la edad, corregidos para la talla y el sexo (Task Force, 2004) (252).

El valor medio de la PA sistólica fue de  $114,31 \pm 13,79$  mmHg y de diastólica de  $63,77 \pm 6,91$  mmHg.

El estado nutricional se comprobó en límites normales para la edad y sexo, con un valor medio  $19,23 \pm 2,39$  Kg/m<sup>2</sup> y un intervalo del Z-score entre -1 y +1, referido a la población sana de referencia (Hernández M, 1988) (140).

Los parámetros bioquímicos analizados (perfil lipídico, Hb, proteínas totales) se observaron en el intervalo de normalidad según valores de referencia para población infantil sana (Nelson, 2004) (255). Los valores de la mediana, media, desviación estándar e intervalo de confianza (mínimo y máximo) quedan reflejados en la tabla 5.

**Tabla 5.** - Parámetros hemáticos, perfil lipídico y HbA1c en el grupo control

<b>Variable</b>	<b>n</b>	<b>Mediana</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
Hb (g/dl)	13	14,1	14,43	1,48	13,00	16,50
Proteínas (g/dl)	13	7,375	7,37	0,24	7,10	7,64
Albumina (g/dl)	13	4,3	4,45	0,40	4,15	5,04
Ac. úrico (mg/dl)	13	3,3	3,83	1,71	2,40	6,30
HbA1c (%)	13	4,75	4,70	0,26	4,50	5,40
Colesterol (mg/dl)	13	153,33	152,00	15,54	123,00	171,00
LDL-c (mg/dl)	13	78,78	84,00	21,61	32,00	110,00
HDL-c (mg/dl)	13	60,11	66,00	12,59	35,00	73,00
VLDL-c (mg/dl)	13	12,56	11,00	4,16	8,00	19,00
HDL/LDL	13	0,88	0,79	0,50	0,32	2,06
Triglicéridos (mg/dl)	13	62,89	62,00	19,01	41,00	93,00

Los datos de función renal (creatinina plasmática (SCr), volumen de orina, CCr y MA, se refieren en la tabla 6, encontrándose en el intervalo de normalidad para la edad (255).

**Tabla 6.** - Índices de función renal en el grupo control.

<b>Variable</b>	<b>n</b>	<b>Mediana</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
SCr (mg/dl)	13	0,7	0,71	0,13	0,50	1,00
Vol. orina (ml/kg/día)	13	27,73	29,80	8,09	17,08	42,19
Vol. orina (ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )	13	1,14	1,11	0,24	0,75	1,67
Ocr (mg/kg/día)	13	21,31	21,05	3,31	15,94	27,89
CCr (ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )	13	118	116,65	9,76	101,00	133,00
MA (mg/g creatinina)	13	5,56	5,96	1,61	2,78	8,64
MA (mcg/min/1,73 m <sup>2</sup> )	13	3,47	3,78	2,01	0,04	6,42

En la tabla 7 quedan expresados los datos de los parámetros relacionados con la defensa antioxidante, GPx, GSH,  $\alpha$ -tocoferol y  $\beta$ -caroteno, y el daño oxidativo a moléculas, medido por la lipoperoxidación (MDA) y los grupos carbonilo en plasma. Se consideraron estos resultados como expresión del EO en población infantil sana.

**Tabla 7.** - Defensa antioxidante y oxidación de macromoléculas en el grupo control.

<b>Variable</b>	<b>n</b>	<b>Mediana</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
GPx (U/g Hb)	12	86	91,58	47,00	37,00	181,00
GSH ( $\mu$ mol/g Hb)	12	1,906	1,78	0,48	0,67	2,55
$\alpha$ -tocoferol (nmol /g C+Tg)	12	1,595	1,75	0,40	1,12	2,46
$\beta$ -caroteno (nmol /ml)	13	1,005	1,42	1,15	0,67	4,37
G.carbonilo(nmol/mg proteínas)	13	1,167	1,17	0,20	0,91	1,52
MDA (nmol /ml)	13	24,78	25,31	6,61	13,17	34,50

## V.2. Características del grupo de niños con Diabetes Mellitus tipo 1

El grupo de estudio comprendió 29 pacientes con DM 1, 14 de ellos (48,2%) varones, que cumplieron los criterios de selección referidos en el epígrafe de métodos.

La edad media fue de  $13,89 \pm 4,62$  años (intervalo 4,45-20,31 años); 4 pacientes (2 varones) se encontraban en estadio puberal I de Tanner, 3 niñas en estadio II, otros 7 pacientes (4 varones) en estadio III, 9 (5 varones) en estadio IV y 6 (3 varones) en estadio V (tabla 8).

**Tabla 8.**- Características demográficas del grupo de diabetes (DM 1)

Variable	n	Mediana	Media	DE	Mínimo	Máximo
Sexo (varón)	14	(48,2%)				
Edad (años)	29	15,45	13,89	4,62	4,45	20,31
Estadio puberal (Tanner)	29	4			1	5

La media de edad en el debut diabético fue de  $9,07 \pm 3,67$  años, comprobándose CAD en 14 pacientes (48,2 %); el tiempo de evolución hasta el momento del estudio fue de  $58,65 \pm 34,66$  meses (tabla 9). Dos pacientes presentaron un episodio de CAD en su evolución, aunque en ningún caso en el año previo al estudio. En 13 pacientes se registró algún episodio de hipoglucemia que requirió atención en urgencias durante todo el tiempo de evolución de la DM 1. En 5 niños este episodio se produjo durante el año previo al estudio y en ningún caso se consideró grave. En 16 pacientes (55,17 %) no se produjo ningún accidente agudo que precisara hospitalización o atención en urgencias.

Entre los adolescentes diabéticos (>14 años), 4/15 (26,7%) presentaron hábito tabáquico, de los que 3 referían además consumo esporádico de alcohol y 2 consumo ocasional de hachís.

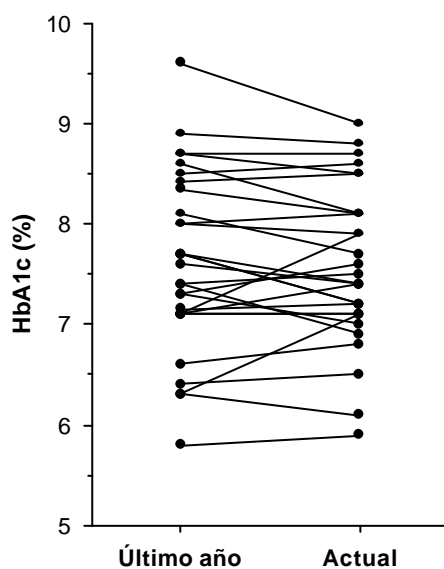


El valor medio de colesterol total y triglicéridos séricos del año previo al estudio se refieren en la tabla 9.

**Tabla 9-** Características evolutivas y control metabólico durante el año previo al estudio en el grupo de DM 1.

Variable	n	Mediana	Media	DE	Mínimo	Máximo
Edad al debut (años)	29	9,44	9,07	3,67	1,51	14,92
Evolución (meses)	29	59,70	58,65	34,66	5,90	143,27
HbA1c (%) año anterior	29	7,60	7,62	0,89	5,80	9,60
Colesterol (mg/dl) año anterior	29	155	158,10	28,38	112	245
Triglicéridos (mg/dl) año anterior	29	62	61,64	17,68	34	99
HbA1c (%)	29	7,40	7,56	0,79	5,90	9,00

La HbA1c media el año previo al estudio fue de  $7,62 \pm 0,89$  %, sin observar modificaciones significativas individuales entre este valor y el obtenido en el momento del estudio ( $7,56 \pm 0,79$ %) (Gráfica 1).



**Gráfica 1.** Media de HbA1c

El grupo de pacientes incluidos, realizó una media de  $4,24 \pm 1,02$  controles glucémicos al día. Para el control metabólico precisaron la administración de 3 a 4

dosis de insulina subcutánea al día, siendo la dosis media administrada de  $0,95 \pm 0,34$  UI/kg/día (tabla 10).

**Tabla 10.**- Tratamiento actual en el grupo de DM 1

<b>Variable</b>	<b>n</b>	<b>Mediana</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
Glucemias / día	29	4	4,24	1,02	3	6
Glucemia posprandial/día	29	1	1,10	0,82	0	2
Insulina (dosis / día)	29	3	3,07	0,37	2	4
Insulina (UI/kg/día)	29	0,97	0,95	0,34	0,15	1,55

La exploración clínica en el momento del estudio fue normal en todos los pacientes. El valor medio del IMC fue de  $21,09 \pm 3,90$  kg/m<sup>2</sup>. La PA sistólica media fue de  $117,31 \pm 14,17$  mmHg y la diastólica de  $61,14 \pm 10,19$  mmHg. En ningún caso la tensión arterial casual superó el percentil 95 para la edad, corregida para la talla y el sexo (tabla 11).

**Tabla 11.**- Características clínicas del grupo de DM 1

<b>Variable</b>	<b>n</b>	<b>Mediana</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
Peso (kg)	29	53,40	52,76	20,59	16,00	100,00
Talla (cm)	29	159,00	154,23	21,67	104,00	180,00
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	29	20,48	21,09	3,90	14,79	31,21
PA sistólica (mmHg)	29	119	117,31	14,17	83	145
PA diastólica (mmHg)	29	61	61,14	10,19	23	73

Los parámetros bioquímicos analizados (Hb, proteínas totales, perfil lipídico) se encuentran en el intervalo de normalidad según los valores de referencia para la población infantil sana (Nelson, 2004) (255) y quedan expresados en la tabla 12.

**Tabla 12.** - Parámetros hemáticos y HbA1c en el grupo de DM 1

<b>Variable</b>	<b>n</b>	<b>Mediana</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
Hb (g/dl)	29	13,50	13,55	1,57	7,40	16,00
Proteínas (g/dl)	29	6,78	6,86	0,36	6,16	7,50
Albumina (g/dl)	29	4,24	4,26	0,18	3,92	4,52
Ac. úrico (mg/dl)	29	3,10	3,30	1,05	2,20	6,30
HbA1c (%)	29	7,40	7,56	0,79	5,90	9,00
Colesterol (mg/dl)	29	150	157,28	31,39	104	235
LDL-c (mg/dl)	29	81	83,79	28,92	24	151
HDL-c (mg/dl)	29	62	60,79	11,32	38	82
VLDL-c (mg/dl)	29	11	12,69	5,43	7	34
HDL/LDL	29	0,78	0,83	0,42	0,30	2,58
Triglicéridos (mg/dl)	29	54	63,10	27,06	35	170

El filtrado glomerular medio, expresado como CCr, fue de 148,08 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> con un intervalo de 106-216 ml /min/1,73m<sup>2</sup>. El filtrado glomerular medio estimado, según la formulación de Schwartz fue de 115 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, con un mínimo de 82 y un máximo de 151 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.

La EUA media fue de 19,76 ±53,31 mcg/min/1,73m<sup>2</sup>, (tabla 13) presentando MA incipiente significativa 2 niños (caso 35 y caso 37). Ningún niño incluido en el estudio presentaba macroproteinuria y en ningún caso se había iniciado tratamiento con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA).

**Tabla 13.** - Índices de función renal en el grupo de DM 1.

<b>Variable</b>	<b>n</b>	<b>Mediana</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
SCr (mg/dl)	29	0,80	0,81	0,14	0,60	1,10
Vol. orina (ml/kg/día)	29	22,73	26,68	13,08	7,49	67,31
Vol. orina (ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )	29	0,97	1,05	0,39	0,31	2,16
Ocr (mg/kg/día)	29	22,81	23,64	5,49	15,32	34,56
CCr (ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )	29	151,08	148,08	23,27	106,58	216,32
MA (mg/g creatinina)	29	7,94	19,87	49,57	1,45	265,03
MA (mcg/min/1,73 m <sup>2</sup> )	29	6,81	19,76	53,31	3,47	289,51

En la tabla 14 se refieren los datos de los parámetros de la defensa antioxidante y el daño oxidativo a lípidos (MDA) y a proteínas (grupos carbonilo).

**Tabla 14** - Defensa antioxidante y oxidación de macromoléculas en el grupo de DM 1.

<b>Variable</b>	<b>n</b>	<b>Mediana</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
GPx (U/g Hb)	29	91,00	97,21	42,08	36,00	201,00
GSH ( $\mu\text{mol/g}$ Hb)	29	1,66	1,65	0,98	0,10	3,39
Alfa-tocoferol (nmol/l/g C+Tg)	25	1,55	1,48	0,53	0,12	2,32
Beta-caroteno (nmol /ml)	23	1,03	1,00	0,46	0,28	1,85
G. carbonilo (nmol/mg proteína)	29	1,38	1,51	0,54	0,71	2,97
MDA (nmol /ml)	29	36,39	34,20	11,87	14,74	54,58

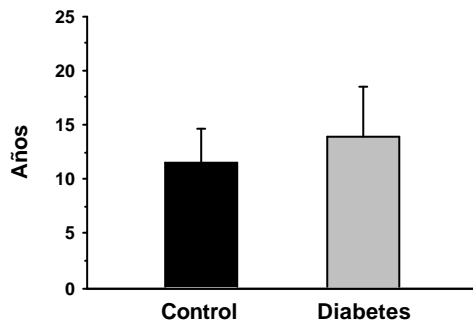
En ningún paciente de los incluidos en el estudio, el examen oftalmológico evidenció signos de retinopatía. Asimismo, no se comprobó afectación neurológica periférica, valorada con la velocidad de conducción nerviosa.

### V.3. Comparación de variables clínicas y metabólicas entre el grupo control y el de Diabetes Mellitus tipo 1

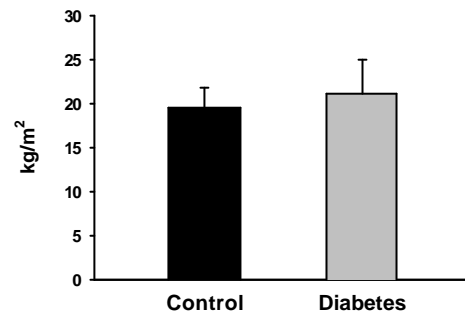
#### V.3.1. Variables clínicas

La proporción de varones en el grupo control fue de 61,54%, similar a la del grupo de pacientes diabéticos 48,28%. Asimismo, la distribución por edad fue similar, con una media de 11,49 años (intervalo 6-16 años) en el grupo control y de 13,89 años (4-20 años) en el grupo de diabéticos (tabla 15) (gráfica 2).

En relación a variables antropométricas, el peso medio en el grupo control fue de 42,62 Kg, con un IMC medio de 19,52 kg/m<sup>2</sup>. El grupo de diabéticos mostró un peso medio de 52,76 Kg, y un IMC medio de 21,09 kg/m<sup>2</sup>, ligeramente superiores al grupo control pero sin diferencias estadísticamente significativas, con valores de Z-score para el peso, talla e IMC semejantes en ambos grupos (tabla 15) (gráfica 3).

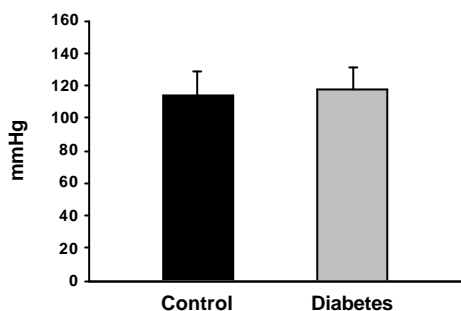


**Gráfica 2:** Edad (años)

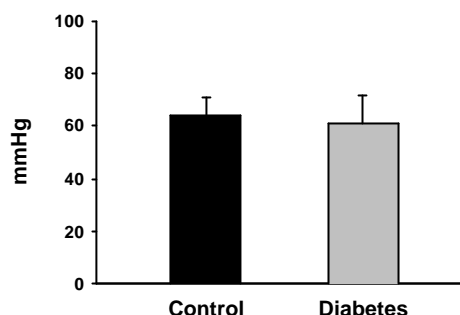


**Gráfica 3:** IMC

La PA casual fue normal en ambos grupos en relación al peso y la talla. La PA sistólica media en el grupo control fue de 114,31 mmHg y en el grupo de diabéticos de 117,31 mmHg. Los valores medios de PA diastólica en el grupo control fueron de 63,77 mmHg y en el grupo de diabéticos de 61,14 mmHg, no encontrándose diferencias significativas entre ambos grupos (tabla 15) (gráficas 4,5)



**Gráfica 4:** PA sistólica (mmHg)



**Gráfica 5:** PA diastólica (mmHg)

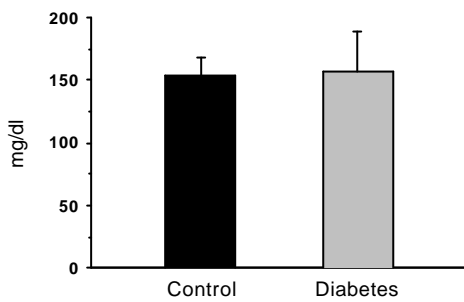
**Tabla 15.** - Comparación de parámetros clínicos entre el grupo control y el grupo de DM 1

Variable	Grupo Control			Grupo DM-1			p
	n	Media	DE	n	Media	DE	
Edad (años)	13	11,49	3,08	29	13,89	4,62	NS
Niños (%)	8	61,54%		14	48,28%		NS*
Peso (kg)	13	42,62	15,51	29	52,76	20,59	NS
Talla (cm)	13	144,77	21,78	29	154,23	21,67	NS
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	13	19,52	2,39	29	21,09	3,90	NS
PA sistólica (mmHg)	13	114,31	13,79	29	117,31	14,17	NS
PA diastólica (mmHg)	13	63,77	6,91	29	61,14	10,19	NS

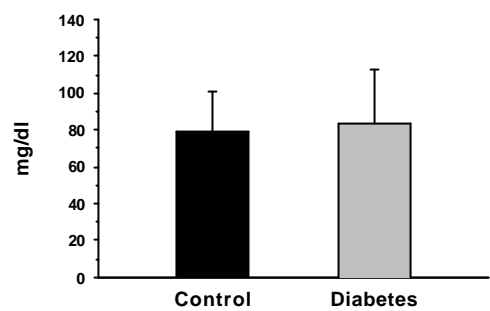
\*Chi-cuadrado

### V.3.2. Variables bioquímicas sanguíneas

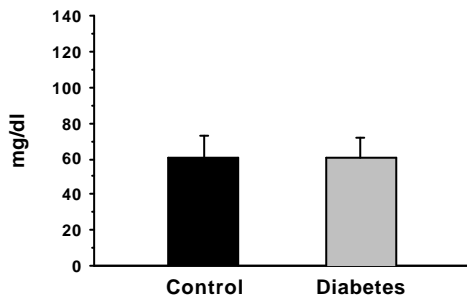
No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores medios de hemoglobina, proteínas totales y albúmina séricas. Asimismo, fueron similares las concentraciones medias de colesterol y triglicéridos (tabla 16) (gráficas 6-9).



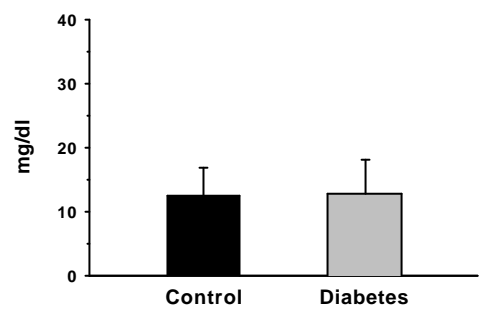
**Gráfica 6:** Colesterol



**Gráfica 7:** LDL-Colesterol

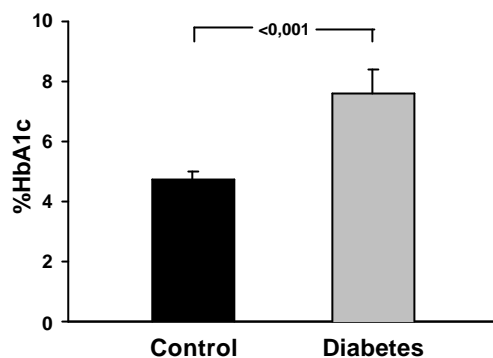


**Gráfica 8:** HDL-Colesterol



**Gráfica 9:** VLDL-Colesterol

Como era lógico esperar el grupo de diabéticos mostró un valor muy superior de la HbA1c frente al grupo control ( $p < 0,001$ ) (tabla 16) (gráfica 10).



**Gráfica 10.** HbA1c (%)

**Tabla 16.-** Comparación de medias de parámetros bioquímicos entre el GC y el DM 1.

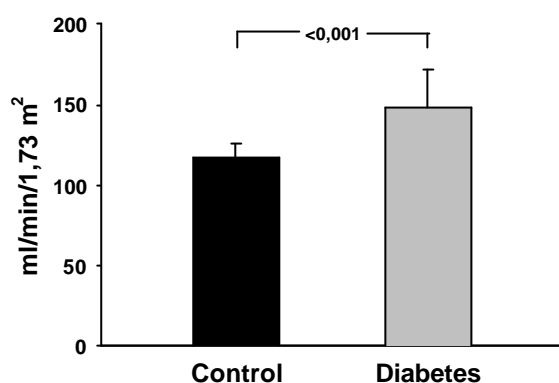
Variable	Grupo Control			Grupo DM-1			p
	n	Media	DE	n	Media	DE	
Colesterol (mg/dl)	13	153,33	15,54	29	157,28	31,39	NS
LDL-c (mg/dl)	13	78,78	21,61	29	83,79	28,92	NS
HDL-c (mg/dl)	13	60,11	12,59	29	60,79	11,32	NS
VLDL-c (mg/dl)	13	12,56	4,16	29	12,69	5,43	NS
HDL/LDL (mg/mg)	13	0,88	0,50	29	0,83	0,42	NS
Triglicéridos (mg/dl)	13	62,89	19,01	29	63,10	27,06	NS
HbA1c (%)	13	4,75	0,26	29	7,56	0,79	<0,001*

\*Test T de Student



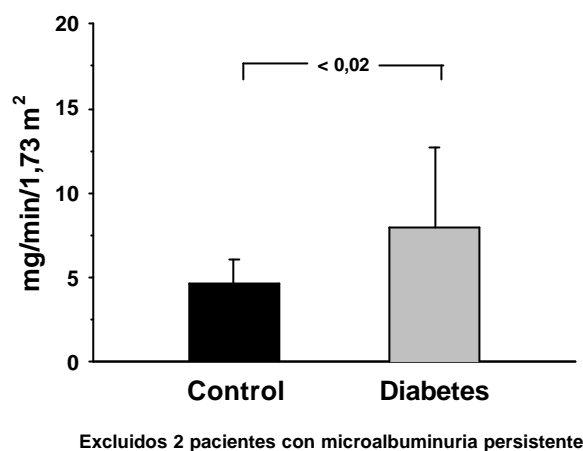
### V.3.3. Índices de función renal.

En el grupo control, la media de SCr fue de 0,71 mg/dl, inferior ( $p < 0,05$ ) a la del grupo de diabéticos, que fue de 0,81 mg/dl. Contrariamente, el CCr del grupo de diabéticos se comprobó significativamente mayor ( $p < 0,001$ ) respecto al grupo control ( $148,08 \pm 23,27$  vs  $116,65 \pm 9,76$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) (tabla 17) (gráfica 11).



**Gráfica 11:** Aclaramiento de Creatinina

Individualmente, la EUA en el grupo de DM 1 mostró valores moderadamente más elevados que en el grupo control, si bien dos niños mostraron EUA claramente patológica ( $>20$  mg/g Cr ó  $>20$  mcg/min/1,73 m<sup>2</sup>). Considerando los resultados globales, a pesar de la mayor dispersión de los resultados individuales, la EUA en el grupo de DM 1 fue significativamente mayor que en el grupo control ( $19,76 \pm 53,31$  vs  $3,78 \pm 2,01$  mcg/min/1,73 m<sup>2</sup>) (tabla 17). Eliminando los dos casos (caso 35 y caso 37) de DM 1 que presentan una MA anormal, el grupo de DM 1 mantiene una eliminación superior de albúmina en relación al grupo control, tanto expresado como mcg/min/1,73 m<sup>2</sup> ( $7,93 \pm 0,28$  vs  $3,78 \pm 2,01$ ,  $p < 0,02$ ) como en mg/grCr ( $8,34 \pm 3,14$  vs  $5,96 \pm 1,61$ ,  $p < 0,05$ ) (gráfica 12).



**Gráfica 12:** Microalbuminuria

**Tabla 17.-** Comparación de medias de índices renales entre el grupo control y el grupo de DM 1.

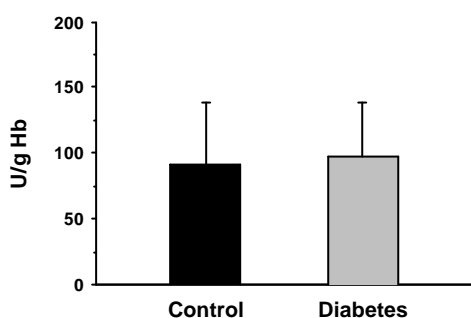
Variable	Grupo Control			Grupo DM-1			p
	n	Media	DE	n	Media	DE	
SCr (mg/dl)	13	0,71	0,13	29	0,81	0,14	<0,05
Volumen de orina (ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )	13	1,11	0,24	29	1,05	0,39	NS
Ocr (mg/kg/día)	13	21,05	3,31	29	23,64	5,49	NS
CCr (ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )	13	116,65	9,76	29	148,08	23,27	<0,001*
MA (mg/g creatinina)	13	5,96	1,61	29	19,87	49,57	NS*
MA (mcg/min/1,73 m <sup>2</sup> )	13	3,78	2,01	29	19,76	53,31	<0,01*

\*Test T de Student

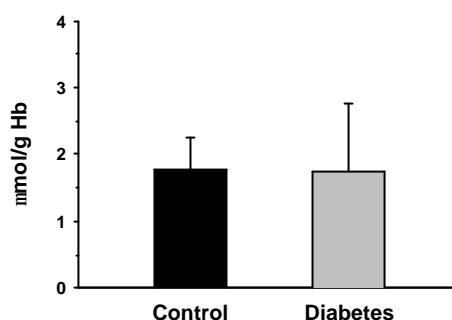
### V.3.4. Variables de estrés oxidativo

No hubo diferencias significativas para los parámetros de defensa antioxidante enzimática (GPx) ni de los antioxidantes no enzimáticos (GSH,  $\alpha$ -tocoferol y  $\beta$ -caroteno) estudiados. El valor de GPx en el grupo control fue de

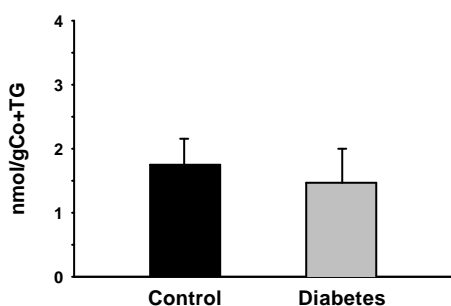
91,58±47,00 U/gHb y en el grupo de diabéticos de 97,21±42,08 U/gHb. El valor medio de GSH en el grupo control fue de 1,78±0,48 micromol/gHb y en el grupo de diabéticos de 1,65±0,98 micromol/gHb. Sin embargo, se observa una tendencia a disminuir los valores de  $\alpha$ -tocoferol (1,48±0,53 nmol/g Co+Tg) y de  $\beta$ -caroteno en el grupo de DM 1 en relación al grupo control, pero sin diferencias significativas (1,0±0,46 vs 1,42±1,15 nmol/ml) (tabla 18) (gráficas 13-16)



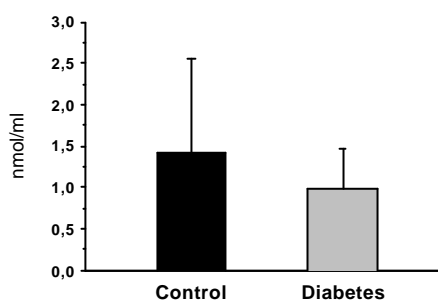
**Gráfica 13:** GPx



**Gráfica 14:** GSH



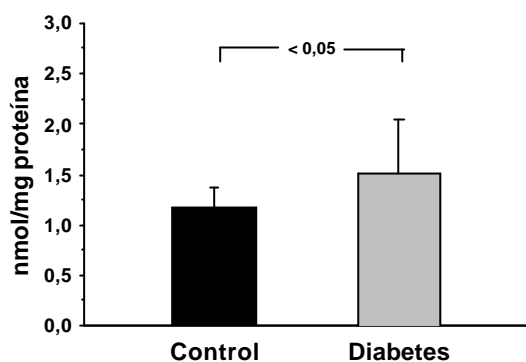
**Gráfica 15:**  $\alpha$ -tocoferol



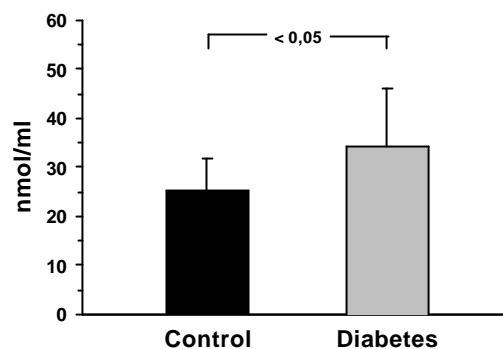
**Gráfica 16:**  $\beta$ -caroteno

Si que se observaron diferencias significativas entre ambos grupos para los valores de grupos carbonilo y MDA, siendo mayores las cifras obtenidas en el grupo de diabéticos. Así el valor medio para los grupo carbonilo en el grupo control fue de 1,17±0,20 nmol/mg proteína y en el grupo de diabéticos de 1,51±0,54 nmol/mg

proteína. El valor medio de MDA en el grupo control fue de  $25,31 \pm 6,61$  nmol/ml y en el grupo de diabéticos de  $34,20 \pm 11,87$  nmol/ml (tabla 18) (gráficas 17,18)



**Gráfica 17:** Grupos Carbonilo



**Gráfica 18:** MDA

**Tabla 18.**- Defensa antioxidante y oxidación de macromoléculas en el grupo control y el grupo DM 1

Variable	Grupo Control			Grupo DM-1			p
	n	Media	DE	n	Media	DE	
GPx (U/g Hb)	12	91,58	47,00	29	97,21	42,08	NS
GSH ( $\mu$ mol/g Hb)	12	1,78	0,48	29	1,65	0,98	NS
Alfa-tocoferol (nmol /g Co+Tg)	12	1,75	0,40	25	1,48	0,53	NS
Beta-caroteno (nmol /ml)	13	1,42	1,15	23	1,00	0,46	NS
G. carbonilo (nmol/mg proteína)	13	1,17	0,20	29	1,51	0,54	<0,05*
MDA (nmol /ml)	13	25,31	6,61	29	34,20	11,87	<0,05*

\*Test T de Student

#### **V.4. Correlación entre las variables**

Para identificar posibles correlaciones estadísticas entre las variables analizadas, se realizó en el grupo de niños diabéticos un análisis de correlación bivariante utilizando la R de Pearson para variables continuas (paramétricas) y la R de Spearman para las variables discontinuas (no paramétricas). En la tabla 19 quedan reflejadas las correlaciones para las variables cuantitativas. Se completó el estudio mediante análisis de regresión lineal, reflejándose en la tabla 20 aquellos que mostraron significación estadística.

Se observó una alta correlación entre los valores medios de la HbA1c correspondientes al año previo y los correspondientes en el momento del estudio, reflejando una estabilidad metabólica del grupo de niños con DM 1. El análisis de regresión lineal entre estas dos variables mostró un coeficiente de regresión  $R = 0,92$  ( $p < 0,001$ ) (tabla20).

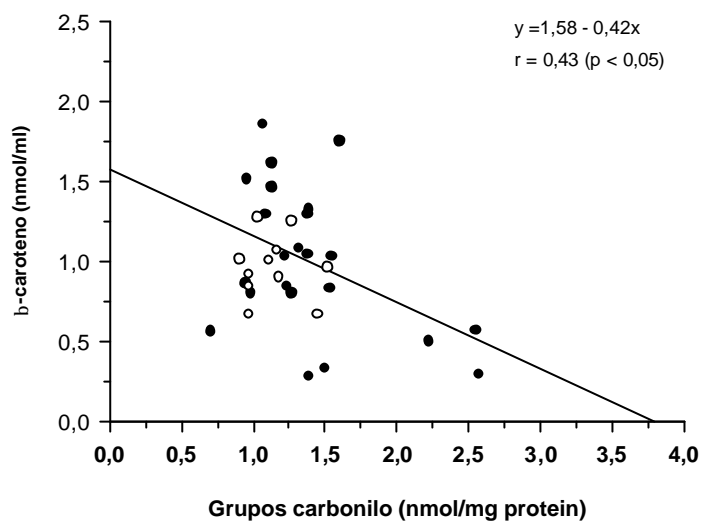
Se observó una correlación positiva del IMC con la edad en el momento del estudio, la edad al debut y el tiempo de evolución de la diabetes en meses.

La PAS se correlacionó positivamente con la edad en el momento del estudio, la edad al debut, el tiempo de evolución, el peso, el IMC y la creatinina plasmática. La PAD se correlacionó positivamente con la edad, el peso, el IMC y de forma marginal ( $p=0,049$ ) con el CCr.

La concentración de creatinina sérica se correlacionó positivamente con la edad, la edad al debut, la evolución en meses de la enfermedad, el peso, el IMC, la PAS y la PAD.

El CCr se correlacionó positivamente con la edad, la PAD y de forma muy significativa con la HbA1c (tabla 19). Mediante análisis de regresión lineal se obtuvieron correlaciones significativas entre el CCr y la edad ( $R=0,47$ ;  $p<0,01$ ), la HbA1c media del año anterior ( $R=0,74$ ;  $p<0,001$ ), la HbA1c en el momento del estudio ( $R=0,62$ ;  $p<0,001$ ) y la MA ( $R=0,61$ ;  $p<0,001$ ) (tabla 20)

No se observó correlación significativa entre los parámetros analizados de EO (defensa antioxidante y daño a moléculas) y ninguna de las variables clínicas, evolutivas, bioquímicas e índices renales analizados (tabla 19). Se observó una correlación negativa ( $p < 0,05$ ) entre la concentración plasmática de  $\beta$ -carotenos y los grupo carbonilo (gráfica 19).



**Gráfica 19:** Relación entre  $\beta$ -carotenos y grupos carbonilo



**Tabla 20.-** Análisis de regresión entre variables con significación estadística en los niños DM 1

<b>Variables</b>		<b>Coefficientes</b>				
<b>Dependiente (x)</b>	<b>Independiente (y)</b>	<b>a</b>	<b>b</b>	<b>R</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
HbA1c actual	HbA1c año anterior	1,37	0,81	0,922	153,260	< 0,001
HbA1c actual	Insulina (UI/kg/día)	6,53	1,09	0,470	7,652	= 0,010
IMC	PAS	4,41	0,14	0,517	9,825	= 0,004
IMC	PAD	10,36	0,18	0,458	7,174	= 0,012
CCr	Edad	114,90	3,39	0,474	7,822	= 0,009
CCr	HbA1c año anterior	1,54	19,24	0,737	32,149	< 0,001
CCr	HbA1c actual	8,44	18,47	0,624	17,247	< 0,001
CCr	MA (mg/g Cr)	143,00	0,26	0,544	11,361	= 0,002
CCr	MA (mcg/min/1,73 m <sup>2</sup> )	142,83	0,27	0,609	15,912	< 0,001



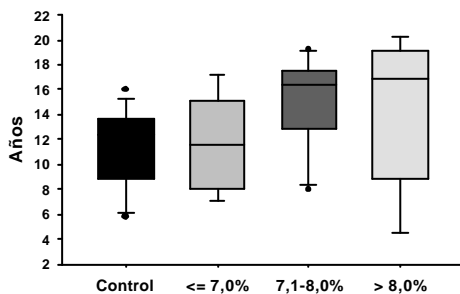
## V.5. Comparación entre los grupos.

Para la comparación entre grupos se utilizó el análisis de la varianza (ANOVA) con corrección de Bonferroni y Dunnet para el análisis post-hoc, según fueran las varianzas iguales o no iguales. Para las variables categóricas se realizó un primer análisis entre los grupos (test de Kruskal-Wallis) y posteriormente las diferencias entre dos grupos mediante la U de Mann-Whitman ó la chi-cuadrado.

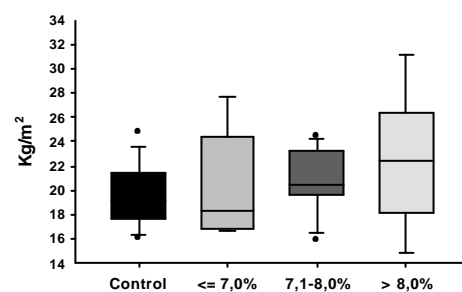
### V.5.1 Comparación de variables clínicas y metabólicas entre el grupo control y el de DM 1 en función del grado de control metabólico (Grupos 1-3)

En las tablas 21, 22, 23, 24 y 25 se refieren los valores medios correspondientes al Grupo Control (GC) y a los del Grupo 1 (HbA1c  $\leq 7,0$  %), Grupo 2 (HbA1c entre 7,1 y 8,0 %) y Grupo 3 (HbA1c  $> 8,0$  y  $\leq 9\%$ ).

No se encontraron diferencias significativas entre los grupos en relación a la edad (gráfica 20), el sexo, las variables antropométricas (gráfica 21), la PA ni para los parámetros bioquímicos analizados (Hb, proteínas, albúmina, ácido úrico, colesterol total y fracciones y triglicéridos), ni entre los grupos de pacientes diabéticos en relación a la edad al debut; si que hubo diferencias significativas entre los grupos de pacientes diabéticos en relación a los meses de evolución (tablas 21, 22,23).

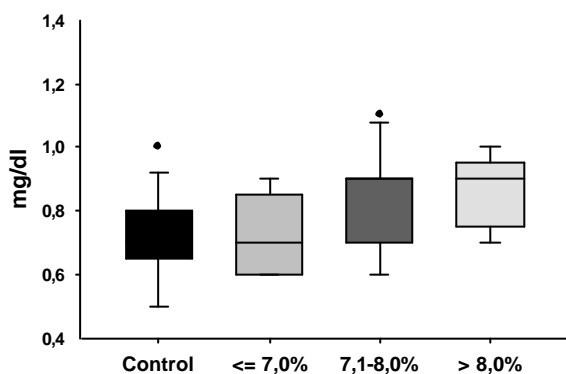


**Gáfica 20:** Edad (años)

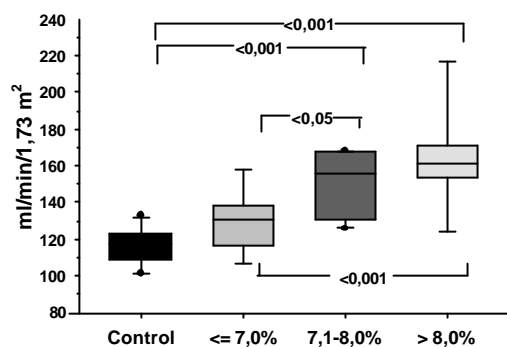


**Gáfica 21:** IMC ( $\text{Kg}/\text{m}^2$ )

Analizando los índices de función renal (gráficas 22, 23), se observaron diferencias significativas en relación al aclaramiento de creatinina, entre el grupo control ( $116,65 \pm 9,76$  ml/min/ $1,73m^2$ ) y los pacientes del Grupo 2 ( $150,94 \pm 16,61$  ml/min/ $1,73m^2$ ) y el Grupo 3 ( $164,11 \pm 24,26$  ml/min/ $1,73m^2$ ), pero no entre el grupo control y los pacientes del grupo 1 con HbA1c  $< 7,0$  % ( $128,54 \pm 15,21$  ml/min/ $1,73m^2$ ). Asimismo, los valores de CCr son más elevados en los grupos 2 y 3 respecto al grupo 1 ( $p < 0,01$ ), pero sin diferencias entre sí (tabla 24).



**Gráfica: 22:** Creatinina sérica

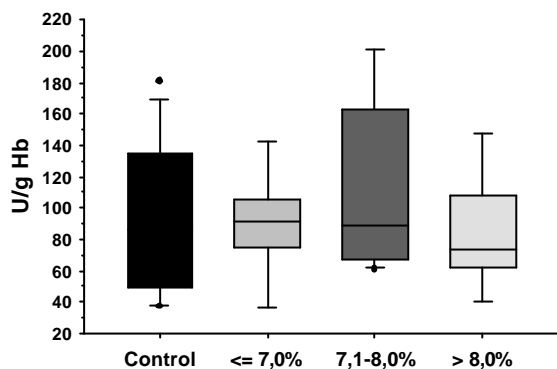


**Gráfica: 23:** Filtrado Glomerular

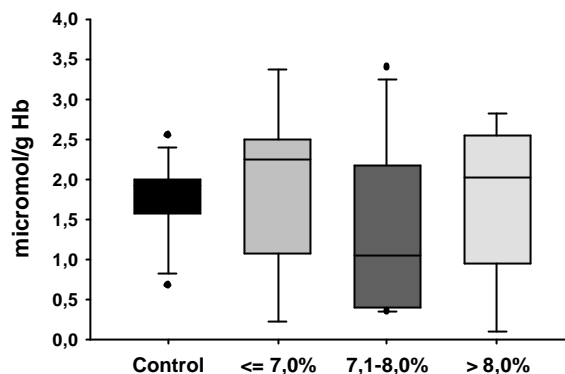
En relación a la MA, expresada como mcg/min/ $1,73m^2$ , es superior en los tres grupos frente al grupo control, aunque sólo son diferencias significativas las encontradas entre el G1 y G2 vs el grupo control ( $7,14 \pm 4,01$  y  $7,26 \pm 4,11$  vs  $3,78 \pm 2,01$  mcg/min/ $1,73m^2$ ,  $p < 0,05$ ). Si expresamos la MA en mg/gCr, obtenemos valores mayores en los tres grupos respecto al grupo control pero sólo es significativa la diferencia entre el G1 en relación con el grupo control ( $10,32 \pm 4,55$  vs  $5,96 \pm 1,61$  mg/gCr,  $p < 0,05$ ), probablemente porque la MA, expresada en mg/gCr, está subestimada cuando se asocia a HF (tabla 24).

En relación a los parámetros de defensa antioxidante (gráficas 24, 25), no se observaron diferencias para la GPx ni GSH. Se observa una disminución significativa de los niveles de  $\alpha$ - tocoferol en los grupos 2 y 3 frente al grupo control

( $1,29 \pm 0,56$  y  $1,34 \pm 0,31$  vs  $1,75 \pm 0,40$  nmol/gCo+TG,  $p < 0,02$ ), los valores de  $\beta$ -caroteno disminuyen en los tres grupos frente al grupo control pero sin ser significativas las diferencias encontradas.

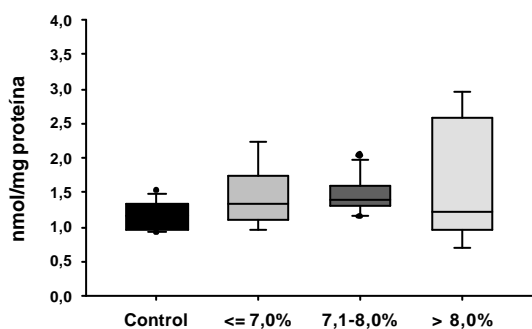


**Gráfica 24:** Glutathion Peroxidasa

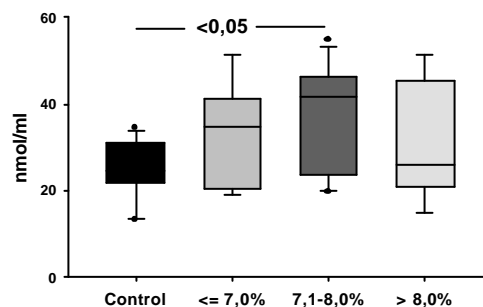


**Gráfica 25:** Glutathion Reducido (GSH)

En lo referente a los marcadores de EO (grupos carbonilo y MDA), aunque los valores medios de los grupos de niños diabéticos son superiores al grupo control, únicamente se observan diferencias estadísticamente significativas entre el Grupo 2 y el Grupo Control (G. Carbonilo  $1,49 \pm 0,26$  vs  $1,17 \pm 0,20$  nmol/mg proteína,  $p < 0,05$ ; TBARS  $37,78 \pm 11,47$  vs  $25,31 \pm 6,61$  nmol/ml,  $p < 0,05$ ) (tabla 25 y gráficas 26, 27).



**Gráfica 26:** Grupos carbonilo



**Gráfica 27:** MDA

**Tabla 21.** - Comparación de medias entre el Grupo Control y los Grupos 1, 2 y 3.

Variable	GC (Grupo Control)			G-1 (HbA1c £7, 0 %)			G-2 (HbA1c 7, 1-8, 0 %)			G-3 (HbA1c > 8,0 %)			ANOVA
	n	Media	DE	n	Media	DE	n	Media	DE	n	Media	DE	p
Edad (años)	13	11,49	3,08	9	11,67	3,66	11	15,16	3,52	9	14,55	6,12	NS
Niños (%)	8	61,5		4/9	44,4		3/11	27,3		7/9	77,8		NS*
Peso (kg)	13	42,62	15,51	9	48,67	19,57	11	51,10	13,99	9	58,87	28,12	NS
Talla (cm)	13	144,77	21,78	9	150,70	18,70	11	155,39	18,00	9	156,33	29,47	NS
IMC (kg/m²)	13	19,52	2,39	9	20,55	4,11	11	20,66	2,40	9	22,16	5,22	NS
TAS (mmHg)	13	114,31	13,79	9	117,44	8,43	11	116,27	16,54	9	118,44	16,94	NS
TAD (mmHg)	13	63,77	6,91	9	58,33	6,60	11	63,00	14,26	9	61,67	7,18	NS

\*Prueba de Kruskal-Wallis

**Tabla 22.**- Comparación de medias entre el Grupo Control y los Grupos 1, 2 y 3.

Variable	GC (Grupo Control)			G-1 (HbA1c $\leq$ 7,0 %)			G-2 (HbA1c 7,1-8,0 %)			G-3 (HbA1c > 8,0 %)			ANOVA
	n	Media	DE	n	Media	DE	n	Media	DE	n	Media	DE	p
Edad debut (años)				9	8,01	2,72	11	9,68	3,07	9	9,37	5,09	NS
Evolución (meses)				9	44,61	34,81	11	66,61 <sup>d</sup>	38,89	9	62,96 <sup>e,f</sup>	27,80	<0,01
HbA1c (%) año anterior				9	6,70	0,55	11	7,53 <sup>d</sup>	0,35	9	8,64 <sup>e,f</sup>	0,44	<0,001
Colesterol (mg/dl) año anterior				9	155,22	15,85	11	169,45	37,39	9	147,11	22,30	NS
Triglicéridos (mg/dl) año anterior				9	55,61	19,73	11	67,00	11,16	9	61,11	21,65	NS
Insulina (UI/kg/día)				9	0,73	0,34	11	1,02	0,34	9	1,07	0,25	NS

(a)  $p < 0,05$  G-1 vs G-C; (b)  $p < 0,05$  G-2 vs G-C; (c)  $p < 0,05$  G-3 vs G-C; (d)  $p < 0,05$  G-2 vs G-1; (e)  $p < 0,05$  G-3 vs G-1; (f)  $p < 0,05$  G-3 vs G-2.

**Tabla 23-** Comparación de medias entre el Grupo Control y los Grupos 1, 2 y 3.

Variable	GC (Grupo Control)			G-1 (HbA1c $\leq$ 7,0 %)			G-2 (HbA1c 7,1-8,0 %)			G-3 (HbA1c > 8,0 %)			ANOVA
	n	Media	DE	n	Media	DE	n	Media	DE	n	Media	DE	p
Hb (g/dl)	13	14,43	1,48	9	13,53	1,10	10	13,09	2,14	9	14,07	1,17	NS
Proteínas (g/dl)	13	7,37	0,24	7	6,97	0,33	10	6,93	0,39	9	6,68	0,30	NS
Albúmina (g/dl)	13	4,45	0,40	7	4,31	0,15	11	4,25	0,18	9	4,21	0,19	NS
Ac. úrico (mg/dl)	13	3,3	1,71	8	2,98	0,62	10	3,19	1,17	7	3,81	1,20	NS
HbA1c (%)	13	4,75	0,26	9	6,72 <sup>a</sup>	0,45	11	7,49 <sup>b,d</sup>	0,26	9	8,49 <sup>c,e,f</sup>	0,33	<0,001
Colesterol (mg/dl)	9	153,33	15,54	9	154,11	13,79	11	161,45	40,25	9	155,33	34,55	NS
LDL-c (mg/dl)	9	78,78	21,61	9	81,44	15,84	11	85,45	30,91	9	84,11	38,36	NS
HDL-c (mg/dl)	9	60,11	12,59	9	62,22	9,12	11	63,45	11,79	9	56,11	12,44	NS
VLDL-c (mg/dl)	9	12,56	4,16	9	10,44	2,70	11	12,55	3,01	9	15,11	8,51	NS
HDL/LDL (mg/mg)	9	0,88	0,50	9	0,80	0,24	11	0,80	0,19	9	0,90	0,70	NS
Triglicéridos (mg/dl)	9	62,89	19,01	9	51,33	13,29	11	62,64	14,77	9	75,44	42,26	NS

(a)  $p < 0,05$  G-1 vs G-C; (b)  $p < 0,05$  G-2 vs G-C; (c)  $p < 0,05$  G-3 vs G-C; (d)  $p < 0,05$  G-2 vs G-1; (e)  $p < 0,05$  G-3 vs G-1; (f)  $p < 0,05$  G-3 vs G-2.

**Tabla 24-** Comparación de medias entre el Grupo Control y los Grupos 1, 2 y 3.

Variable	GC (Grupo Control)			G-1 (HbA1c $\leq$ 7,0 %)			G-2 (HbA1c 7,1-8,0 %)			G-3 (HbA1c > 8,0 %)			ANOVA
	n	Media	DE	n	Media	DE	n	Media	DE	n	Media	DE	p
SCr (mg/dl)	13	0,71	0,13	9	0,73	0,12	11	0,83	0,16	9	0,86	0,11	NS
Diuresis-24h (ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )	13	1,11	0,24	9	0,88	0,23	11	0,96	0,35	9	1,34 <sup>e</sup>	0,44	<0,05
Ocr (mg/kg/día)	13	21,05	3,31	9	22,92	5,78	11	21,40	5,11	9	27,11 <sup>c</sup>	4,28	<0,05
CCr (ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )	13	116,65	9,76	9	128,54	15,21	11	150,94 <sup>b,d</sup>	16,61	9	164,11 <sup>c,e</sup>	24,26	<0,05
MA (mg/g creatinina)	13	5,96	1,61	9	10,32 <sup>a</sup>	4,55	10	8,21	3,18	8	6,28	7,79	<0,05
MA(mcg/min/1,73 m <sup>2</sup> )	13	3,78	2,01	9	7,14 <sup>a</sup>	4,01	10	7,26 <sup>b</sup>	4,11	8	9,65	6,19	<0,05

(a) p<0,05 G-1 vs G-C; (b) p<0,05 G-2 vs G-C; (c) p< 0,05 G-3 vs G-C; (d) p<0,05 G-2 vs G-1; (e) p<0,05 G-3 vs G-1; (f) p<0,05 G-3 vs G-2.

**Tabla 25.-** Comparación de medias entre el Grupo Control y los Grupos 1, 2 y 3.

Variable	GC (Grupo Control)			G-1 (HbA1c £7,0 %)			G-2 (HbA1c 7,1-8,0 %)			G-3 (HbA1c > 8,0 %)			ANOVA
	n	Media	DE	n	Media	DE	n	Media	DE	n	Media	DE	p
GPx (U/g Hb)	12	91,58	47,00	9	90,56	29,69	11	112,45	54,54	9	85,22	32,68	NS
GSH (micromol/g Hb)	12	1,78	0,48	9	1,89	0,98	11	1,40	1,04	9	1,72	0,96	NS
Alfa-tocoferol (nmol/g Co+Tg)	12	1,75	0,40	7	1,91	0,16	10	1,29 <sup>b,d</sup>	0,56	8	1,34 <sup>c,e</sup>	0,51	<0,02
Beta-caroteno (nmol/ml)	13	1,42	1,15	7	1,09	0,58	8	1,07	0,45	8	0,84	0,36	NS
G. carbonilo (nmol/mg prot)	13	1,17	0,20	9	1,43	0,43	11	1,49 <sup>b</sup>	0,26	9	1,60	0,85	<0,05
MDA (nmol/ml)	13	25,31	6,61	9	33,28	11,25	11	37,78 <sup>b</sup>	11,47	9	30,74	13,05	<0,05

(a) p<0,05 G-1 vs G-C; (b) p<0,05 G-2 vs G-C; (c) p< 0,05 G-3 vs G-C; (d) p<0,05 G-2 vs G-1; (e) p<0,05 G-3 vs G-1; (f) p<0,05 G-3 vs G-2.



**V.5.2 Comparación de variables clínicas y metabólicas entre el grupo control y el grupo de DM 1 en función de la presencia o no de hiperfiltración.**

En las tablas 26, 27, 28, 29 y 30 quedan expresados los resultados de las comparaciones entre el grupo control y los grupos sin y con HF.

**V.5.2.1. Comparación de medias entre el grupo control (GC) y el grupo de diabéticos sin hiperfiltración (Grupo No HF)**

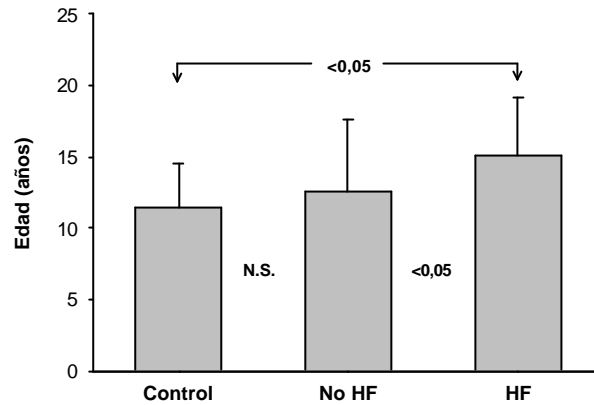
Entre el grupo control y el grupo No HF ( $CCr < 150 \text{ ml/min/1,73m}^2$ ), no hubo diferencias significativas en cuanto a la edad (años), el peso (kg), la talla (m), el IMC ( $\text{kg/m}^2$ ) la PA tanto sistólica como diastólica (mmHg) y el perfil lipídico (tablas 26 - 28).

Siendo la concentración sérica media de creatinina similar en ambos grupos, el  $CCr$  fue mayor ( $p < 0,05$ ) en el grupo No HF frente al grupo control ( $128,46 \pm 11,07$  vs  $116,65 \pm 9,76 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ ), aunque sin criterio de HF (tabla 29).

No se observaron diferencias para las variables de EO entre ambos grupos (tabla 30)

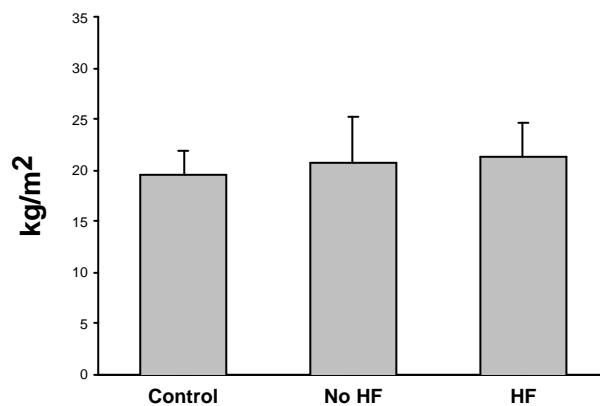
### V.5.2.2. Comparación de medias entre el grupo control y el grupo de diabéticos con hiperfiltración (Grupo HF)

La edad en el grupo HF fue estadísticamente superior a la del grupo control ( $15,94 \pm 3,60$  años vs  $11,49 \pm 3,08$  años) (gráfica 28).

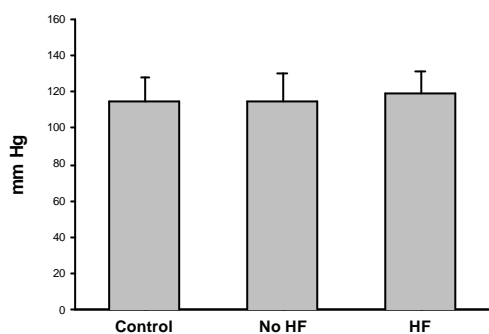


**Gráfica 28:** Edad en el momento del estudio

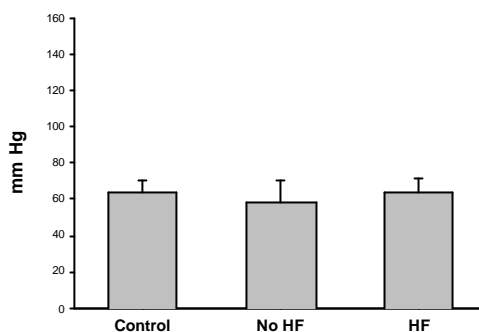
Entre el grupo control y el grupo HF ( $CCr >150$  ml/min/ $1,73m^2$ ), no hubo diferencias significativas en cuanto al peso (kg), la talla (m), el IMC ( $kg/m^2$ ) la PA tanto sistólica como diastólica (mmHg) y el perfil lipídico (tablas 26 - 28) (gráficas 29-33)



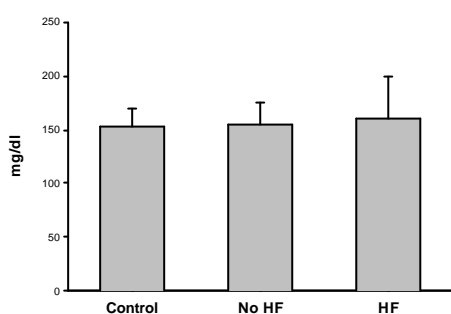
**Gráfica 29:** IMC



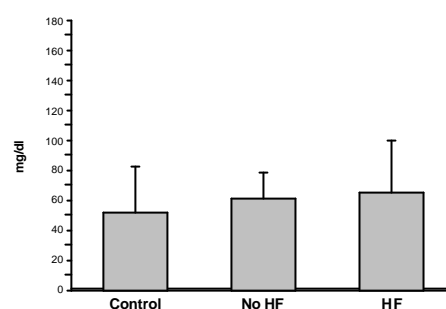
**Gráfica 30:** Presión arterial sistólica



**Gráfica 31:** Presión arterial diastólica



**Gráfica 32:** Colesterol total



**Gráfica 33:** Triglicéridos

La creatinina sérica en el grupo HF fue estadísticamente superior a la del grupo control ( $0,87 \pm 0,12$  mg/dl vs  $0,71 \pm 0,13$  mg/dl)

El CCr fue mayor ( $p < 0,001$ ) en el grupo HF frente al grupo control ( $166,39 \pm 14,99$  vs  $116,65 \pm 9,76$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) (tabla 29).

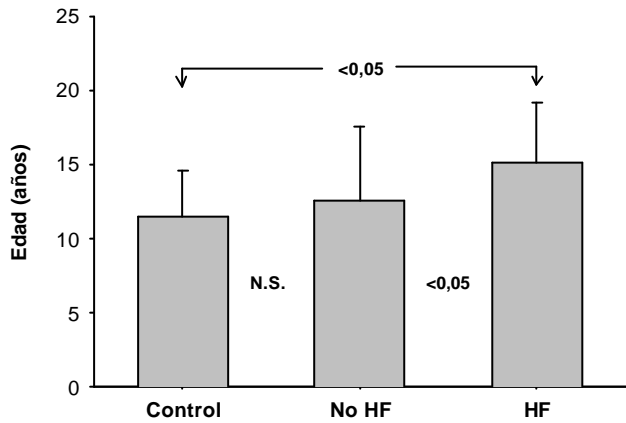
En relación a las variables de EO no se encontraron diferencias significativas en los marcadores de defensa antioxidante siendo la GPx en el grupo HF de  $96,20 \pm 40,94$  U/gHb vs  $91,58 \pm 47,00$  U/gHb en el grupo control. El valor medio de GSH en el grupo HF fue de  $1,6 \pm 1,04$   $\mu$ mol/gHb y en el grupo control de  $1,78$   $\mu$ mol/gHb.

Sí que se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo HF y el grupo control en lo referente a los marcadores de EO (MDA y grupos

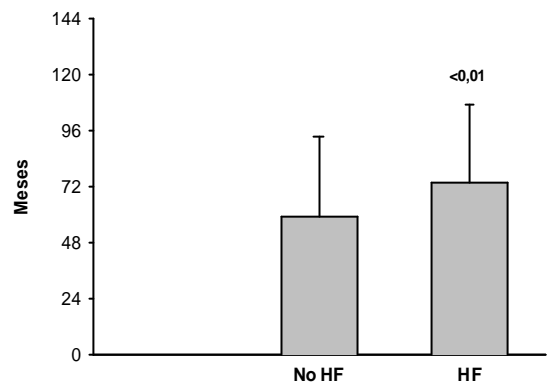
carbonilo). MDA  $36,36 \pm 12,82$  nmol/ml vs  $25,31 \pm 6,61$  nmol/ml. Grupos carbonilo  $1,62 \pm 0,65$  nmol/mg prot vs  $1,17 \pm 0,20$  nmol/mg prot. (Tabla 30) (Gráficas 42, 43).

### V.5.2.3. Comparación de medias entre el grupo de diabéticos sin hiperfiltración (Grupo No HF) y el grupo con hiperfiltración (Grupo HF)

La edad media en el grupo HF fue estadísticamente superior a la del grupo No HF ( $15,94 \pm 3,60$  vs  $11,69 \pm 4,67$  años) (gráfica 34), no encontrándose diferencias en relación a la edad de inicio de la DM 1. Sí encontramos diferencias estadísticamente significativas en relación a la evolución de la enfermedad en meses, superior en el grupo HF ( $75,68 \pm 31,92$  vs  $40,40 \pm 28,23$  meses) (gráfica 35) y los valores de HbA1c del año previo, superiores también en el grupo HF ( $8,18 \pm 0,63$  vs  $7,01 \pm 0,72\%$ )

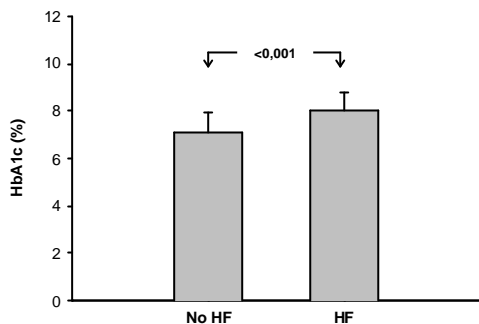


**Gráfica 34:** Edad en el momento del estudio

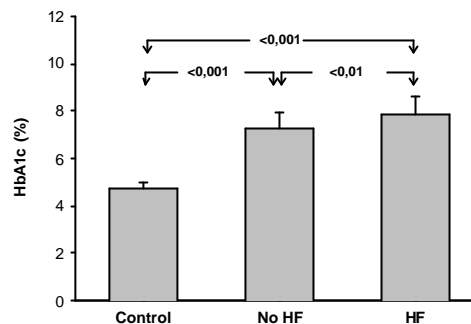


**Gráfica 35:** Evolución de la diabetes

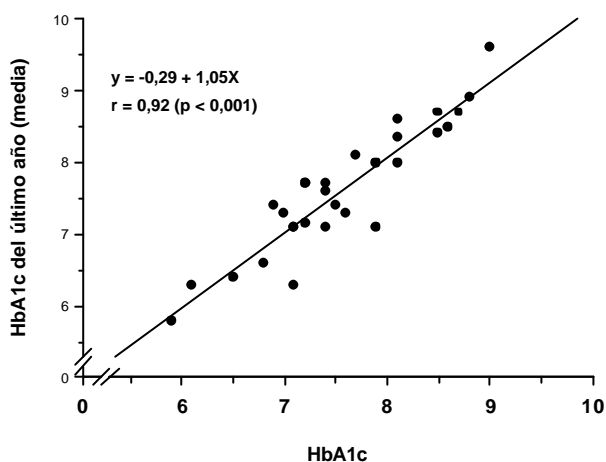
Los niveles de HbA1c en el grupo HF fueron estadísticamente superiores a los del grupo control ( $7,96\pm 0,68$  vs  $7,14\pm 0,67\%$ ) (tablas 26-28) (gráfica 36,37, 38)



**Gráfica 36:** HbA1c último año (media)



**Gráfica 37:** HbA1c (media) en el momento del estudio

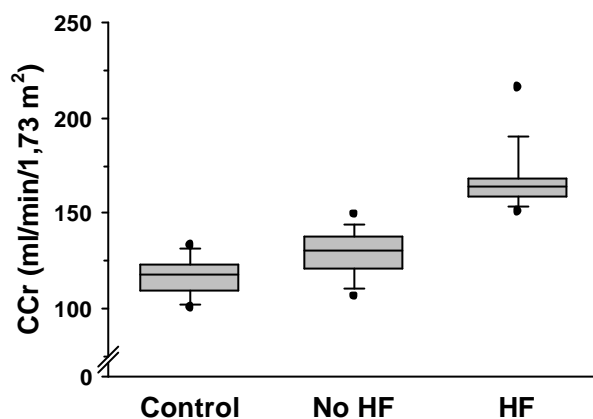


**Gráfica 39:** Relación entre HbA1c previa y actual

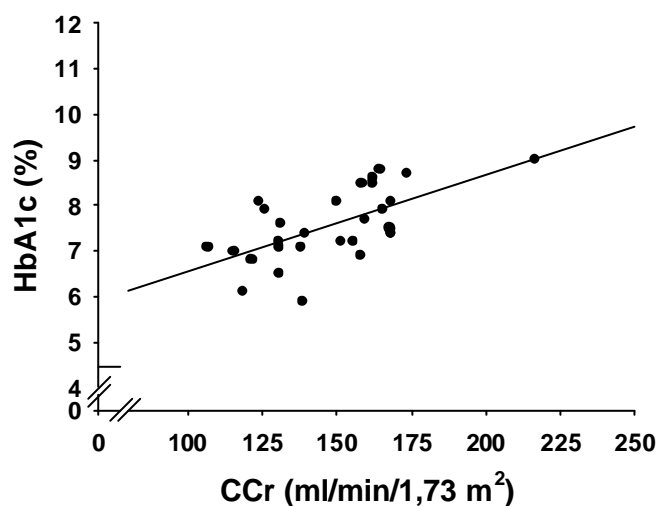
No se encontraron diferencias entre los grupos en relación al peso (kg), la talla (cm), el IMC ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ), la PA tanto sistólica como diastólica (mmHg) ni en los parámetros bioquímicos analizados.

La creatinina sérica en el grupo HF fue estadísticamente superior a la del grupo No HF ( $0,87\pm 0,12$  vs  $0,74\pm 0,13$  mg/dl)

El CCr fue mayor ( $p < 0,001$ ) en el grupo HF frente al grupo No HF ( $166,39 \pm 14,99$  vs  $128,46 \pm 11,07$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) (Tabla 29) (Gráfica 39), encontrándose una relación positiva entre el aclaramiento de creatinina y la HbA1c (Gráfica 40).

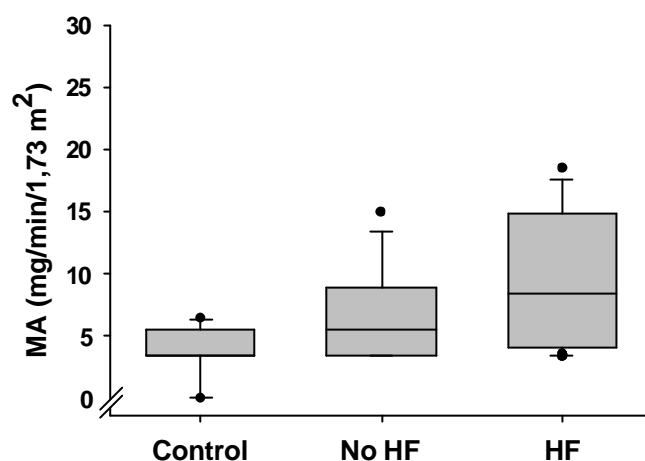


**Gráfica 39:** Aclaramiento de creatinina (CCr)



**Gráfica 40:** Relación entre Aclaramiento de creatinina (CCr) y HbA1c

Así mismo la MA, expresada en mcg/min/1,73 m<sup>2</sup>, fue significativamente superior (p< 0,01) en el grupo HF que en el grupo No NH (9,53±5,33 mcg/min/1,73 m<sup>2</sup> vs 6,44± 3,70 mcg/min/1,73 m<sup>2</sup>) (Gráfica 41)



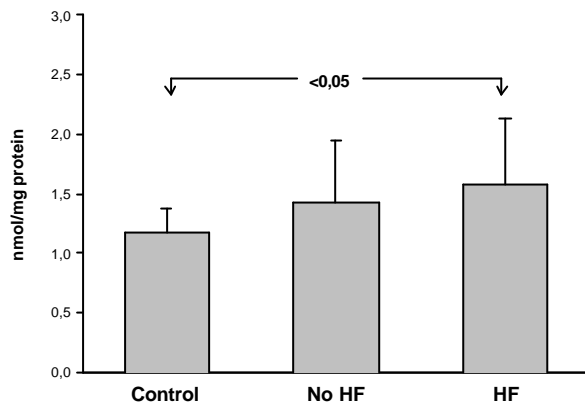
No se incluyen los 2 casos DM1 con MA alta

**Gráfica 41:** Microalbuminuria  
(mg/min/1,73 m<sup>2</sup>)

En relación a las variables de EO no se encontraron diferencias significativas en los marcadores de defensa antioxidante siendo la GPx en el grupo HF de 96,20±40,94 U/gHb vs 98,29±44,80 U/gHb en el grupo No HF. El valor medio de GSH en el grupo HF fue de 1,6±1,04 µmol/gHb y en el grupo No HF de 1,71±0,95 µmol/gHb. (Tabla 30).



Tampoco se encontraron diferencias en lo referente a los marcadores de EO (MDA y grupos carbonilo) (Tabla 30) (Gráficas 42-43).



**Gráfica 42:** Grupos carbonilo

**Tabla 26**- Comparación de medias entre el Grupo Control y los Grupos No HF y HF.

Variable	GC (Grupo Control)			G-No HF (CCr < 150 ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )			G-HF (CCr <sup>≥</sup> 150 ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )			ANOVA
	n	Media	DE	n	Media	DE	n	Media	DE	p
Edad (años)	13	11,49	3,08	14	11,69	4,67	15	15,94 <sup>b,c</sup>	3,60	<0,05
Niños (%)	8	61,54		6	42,86		8	53,33		NS *
Peso (kg)	13	42,62	15,51	14	45,63	23,15	15	59,41 <sup>b,c</sup>	15,87	<0,05
Talla (cm)	13	144,77	21,78	14	145,26	22,85	15	162,60	17,30	<0,05
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	13	19,52	2,39	14	20,15	4,55	15	21,97	3,08	NS
TAS (mmHg)	13	114,31	13,79	14	112,43	13,46	15	121,87	13,68	NS
TAD (mmHg)	13	63,77	6,91	14	57,43	12,21	15	64,60	6,52	NS

\* Prueba de Kruskal-Wallis.

(a) p<0,05 G-No HF vs G-C; (b) p<0,05 G-HF vs G-C; (c) p< 0,05 G-No HF vs G-HF.

**Tabla 27.-** Comparación de medias entre el Grupo Control y los Grupos No HF y HF

Variable	GC (Grupo Control)			G-No HF (CCr < 150 ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )			G-HF (CCr <sup>≤</sup> 150 ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )			ANOVA
	n	Media	DE	n	Media	DE	n	Media	DE	p
Edad debut (años)				14	8,37	3,62	15	9,72	3,71	NS
Evolución (meses)				14	40,40	28,23	15	75,68 <sup>c</sup>	31,92	<0,01
HbA1c (%) año anterior				14	7,01	0,72	15	8,18 <sup>b,c</sup>	0,63	<0,001
Colesterol (mg/dl) año anterior				14	156,07	15,63	15	160,00	37,09	NS
Triglicéridos (mg/dl) año anterior				14	62,11	19,20	15	61,20	16,81	NS
Insulina (UI/kg/día)				14	0,78	0,32	15	1,11	0,28	<0,01

(a) p<0,05 G-No HF vs G-C; (b) p<0,05 G-HF vs G-C; (c) p< 0,05 G-No HF vs G-HF.

**Tabla 28-** Comparación de medias entre el Grupo Control y los Grupos No HF y HF.

Variable	GC (Grupo Control)			G-No HF (CCr < 150 ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )			G-HF (CCr <sup>≤</sup> 150 ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )			ANOVA
	n	Media	DE	n	Media	DE	n	Media	DE	p
Hb (g/dl)	13	14,43	1,48	13	13,57	1,13	15	13,53	1,91	NS
Proteínas (g/dl)	13	7,37	0,24	12	6,87	0,29	14	6,84	0,42	NS
Albúmina (g/dl)	13	4,45	0,40	12	4,28	0,15	15	4,24	0,20	NS
Ac. úrico (mg/dl)	13	3,83	1,71	13	3,13	0,91	12	3,48	1,20	NS
HbA1c (%)	13	4,75	0,26	14	7,14 <sup>a</sup>	0,67	15	7,96 <sup>b,c</sup>	0,68	<0,001
Colesterol (mg/dl)	13	153,33	15,54	14	155,14	20,23	15	159,27	39,76	NS
LDL-c (mg/dl)	13	78,78	21,61	14	82,79	16,66	15	84,73	37,59	NS
HDL-c (mg/dl)	13	60,11	12,59	14	60,07	12,03	15	61,47	10,99	NS
VLDL-c (mg/dl)	13	12,56	4,16	14	12,29	3,43	15	13,07	6,91	NS
HDL/LDL (mg/mg)	13	0,88	0,50	14	0,76	0,22	15	0,90	0,54	NS
Triglicéridos (mg/dl)	13	62,89	19,01	14	60,71	17,45	15	65,33	34,22	NS

(a) p<0,05 G-No HF vs G-C; (b) p<0,05 G-HF vs G-C; (c) p< 0,05 G-No HF vs G-HF.

**Tabla 29.**- Comparación de medias entre el Grupo Control y los Grupos No HF y HF.

Variable	GC (Grupo Control)			G-No HF (CCr < 150 ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )			G-HF (CCr <sup>≥</sup> 150 ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )			ANOVA
	N	Media	DE	N	Media	DE	N	Media	DE	p
SCr (mg/dl)	13	0,71	0,13	14	0,74	0,13	15	0,87 <sup>b,c</sup>	0,12	<0,01
Diuresis-24 h (ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )	13	1,11	0,24	14	1,04	0,37	15	1,06	0,42	NS
Ocr (mg/kg/día)	13	21,05	3,31	14	22,86	5,95	15	24,37	5,12	NS
CCr (ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )	13	116,65	9,76	14	128,46	11,07	15	166,39 <sup>b,c</sup>	14,99	<0,001
MA (mg/g creatinina)	13	5,96	1,61	14	10,98 <sup>a</sup>	5,81	13	5,50	3,03	<0,01
MA (mcg/min/1,73 m <sup>2</sup> )	13	3,78	2,01	14	6,44	3,70	13	9,53 <sup>b</sup>	5,33	<0,01

(a) p<0,01 G-No HF vs G-C; (b) p<0,01 G-HF vs G-C; (c) p< 0,01 G-No HF vs G-HF.

**Tabla 30.** - Comparación de medias entre el Grupo Control y los Grupos No HF y HF.

Variable	GC (Grupo Control)			G-No HF (CCr < 150 ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )			G HF (CCr <sup>3</sup> 150 ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )			ANOVA
	n	Media	DE	n	Media	DE	n	Media	DE	p
GPx (U/g Hb)	12	91,58	47,00	14	98,29	44,80	15	96,20	40,94	NS
GSH (micromol/g Hb)	12	1,78	0,48	14	1,71	0,95	15	1,60	1,04	NS
Alfa-tocoferol (nmol/g Co+Tg)	12	1,75	0,40	12	1,53	0,58	13	1,43	0,49	NS
Beta-caroteno (nmol/ml)	13	1,42	1,15	11	1,05	0,54	12	0,95	0,39	NS
G. carbonilo (nmol/mg prot)	13	1,17	0,20	14	1,38	0,37	15	1,62 <sup>b</sup>	0,65	<0,05
MDA (nmol/ml)	13	25,31	6,61	14	31,88	10,74	15	36,36 <sup>b</sup>	12,82	<0,05

(a) p<0,05 G-No HF vs G-C; (b) p<0,05 G-HF vs G-C; (c) p< 0,05 G-No HF vs G-HF.

## **VI. DISCUSIÓN**

## **VI. DISCUSIÓN**

### **VI. 1. Pacientes y grupo control**

El presente estudio se ha realizado en 42 niños y adolescentes con edades comprendidas entre 1,5 y 16 años. De ellos, 13 son controles sanos atendidos en la consulta externa de pediatría y 29, son pacientes diagnosticados de DM 1 con edades comprendidas entre 2 y 14 años al debut de la enfermedad y atendidos en la Unidad de Diabetes Infantil y Juvenil del Servicio de Pediatría del Hospital Universitario Dr. Peset.

Los pacientes incluidos (n=29), como se ha referido en la metodología, fueron elegidos de una cohorte total de 45 pacientes diagnosticados de DM 1, aplicando criterios de edad al debut, duración de la enfermedad, desarrollo puberal y edad cronológica, que permitieran una estratificación por estas variables, así como una pauta terapéutica similar (dieta, glicemias digitales diarias e insulinoterapia) y un control metabólico adecuado y estable en el último año, expresado por la ausencia de cetoacidosis en los 12 meses anteriores y un valor de HbA1c media del último año semejante a la observada en el momento del estudio (gráfica 1 ). El tiempo de evolución de la enfermedad osciló entre 1 y 10 años por lo que la edad de estudio de los pacientes se situó entre los 3 y 19 años.

El control glicémico, referido al % de HbA1c de los pacientes, fue mejor ( $7,56\pm 0,79\%$ ) que el referido en otros estudios orientados a definir los objetivos en el control metabólico de niños y jóvenes DM 1 y al análisis de factores de riesgo y alteraciones precoces de microangiopatía (41). Así, en el DCCT (346), la HbA1c de adolescentes y jóvenes (16-21 años) sin retinopatía fue de 9,3%. En un estudio poblacional realizado en 2.579 niños franceses (1-19 años) DM 1, la media de HbA1c fue de  $8,97\pm 1,98\%$  (295). En el trabajo del Grupo Internacional de estudio de Nefropatía Diabética (103), se incluyeron 243 jóvenes con una media de HbA1c de  $8,7\pm 1,5\%$ . En el estudio de Oxford (7), se refieren 308 niños DM 1 (0,4-15,9 años), con una HbA1c media de  $9,7\pm 1,8\%$ . En el trabajo del grupo sueco (90), en el que se siguen 75 niños para evaluar la prevalencia de nefropatía a largo plazo, la media de HbA1c



fue de  $9,1\pm 1,4\%$ . El nivel medio de HbA1c referido por la clínica Joslin en 300 niños con intervalo de edad similar, fue de  $8,7\%$  (198); y por último, en el estudio internacional llevado a cabo por el grupo danés (246), que incluye un total de 2.873 niños con DM 1, se refiere una media de HbA1c de  $8,6\pm 1,7\%$ . Sólo el estudio de Domínguez y cols. (100), refiere una media de HbA1c en el grupo de pacientes de  $7,6\pm 0,3\%$ , similar al nuestro.

Como consecuencia de estos valores encontrados en los estudios poblacionales citados, se ha sugerido que el objetivo de una HbA1c  $<7\%$ , recomendado recientemente por la ADA (63), puede no ser adecuado para niños y jóvenes  $< 16$  años, siendo más realista, para evitar riesgo de hipoglucemias, una HbA1c  $<8\%$  para este grupo de edad (63). Nuestros resultados reflejan que el grupo de pacientes incluidos en el estudio presenta un control metabólico estable en el último año y en conjunto un valor medio de HbA1c que puede considerarse aceptable según las recomendaciones actuales. Un  $69\%$  (20/29) de los pacientes, presentaban niveles de HbA1c  $<8\%$ , un tercio ( $31\%$ ) niveles de HbA1c  $=7$  y sólo 9 pacientes presentaron HbA1c entre 8 y  $9\%$ .

La edad media del grupo de DM 1 en el momento del estudio fue de  $13,89\pm 4,62$  años (rango 4,5-20,3) similar a la referida en otras series. Así, la media referida por el grupo francés (295) es de  $12,3\pm 3,9$  años (rango 1-19); Domínguez y cols. (100) en los 30 niños y jóvenes, refieren un rango de edad entre 13 y 24 años; en el estudio de Oxford (7) se incluyen pacientes con una media de edad de 14,1 años y un rango entre 4,8 y 28,1 años; los incluidos en el grupo internacional de estudio de nefropatía diabética (103) tenían una edad media de  $16,8\pm 6,0$  años.

En relación a la edad de inicio de la diabetes, en nuestros pacientes fue de  $9,44\pm 3,67$  años (rango 1,51-14,92), de ellos 17 debutaron en época prepuberal ( $=9$  años) y 6 en período pospuberal ( $=12$  años). Datos similares para la edad media al debut son referidos por el grupo de Oxford (7), media de 9,1 años (rango 0,4-15,9 años) y por el Grupo Internacional para el estudio de Nefropatía Diabética (103), media de 9,8 años (rango 0,5-14,3). Los pacientes incluidos en el registro sueco (90)

tenían una edad media al debut de  $5,7\pm 3,0$  años, es decir, todos prepuberales. En consecuencia, el grupo de pacientes del presente estudio es comparable a los resultados de otras publicaciones dirigidas a evaluar la influencia de la edad de inicio, en la microangiopatía diabética, aunque con un mejor control glicémico.

Este mejor control glicémico, junto a intervalos de edad cronológica y del debut diabético similar a estudios previos, permiten sugerir que, los comentarios y conclusiones de nuestro estudio probablemente puedan referirse con mayor precisión a la población actual de niños y jóvenes diabéticos en los que se refiere la tendencia a un mejor control glicémico que antaño en la mayoría de los países de nuestro entorno (63).

Una limitación del presente estudio lo constituye el número de niños y adolescentes incluidos en el grupo control. Este grupo lo conforma 13 niños y adolescentes sin patología nutricional, endocrino-metabólica ni renal, con distribución etaria y de género similar al grupo de estudio, seleccionados entre pacientes de la Consulta Externa (Nefrología, Gastroenterología...) del Servicio de Pediatría del Hospital Universitario Dr. Peset. Para los parámetros antropométricos, nutricionales y de función renal (bioquímica sanguínea, CCr y MA) los valores observados son similares a los de referencia en textos generales pediátricos (255) y en otros estudios que incluyen estas variables (7, 21, 34, 41, 222), por lo que pueden considerarse adecuados para la población sana del mismo intervalo de edad. Para los parámetros del EO, hemos de tener en cuenta que los resultados dependen de la metodología empleada en cada laboratorio, y de que no se dispone de intervalos de referencia, por lo que es conveniente referir los resultados en una muestra seleccionada entre la población normal. Para ello, los diferentes estudios (60, 66, 100, 116, 117, 135) incluyen un número variable de sujetos, teniendo en cuenta la complejidad de los métodos analíticos empleados y, en cualquier caso, tras comprobar su variabilidad y distribución estadística (test de normalidad). Los resultados obtenidos en el grupo control, analizados según este último criterio, pueden considerarse como representativos de la población sana y, por tanto, los hemos utilizado de referencia para el grupo de pacientes diabéticos.

Dado que se desconoce la incidencia real de las alteraciones del EO en niños y adolescentes DM 1, el tamaño muestral del grupo de estudio, teniendo en cuenta los objetivos del presente trabajo, se estableció entre 25-30, un número similar al referido en otros estudios sobre el metabolismo oxidativo en niños y adolescentes diabéticos (66, 78, 100, 165), así como en pacientes adultos, referidos en la bibliografía (92, 113, 157, 215, 280).

## **VI. 2. Estrés oxidativo y Diabetes.**

Los resultados obtenidos en la presente memoria, confirman la existencia de EO en niños y adolescentes diabéticos y que las alteraciones que lo definen parecen estar en relación con el grado de control metabólico. Este EO se expresó principalmente por un aumento de la lipoperoxidación, representada por el incremento de la concentración plasmática de MDA, y de los grupos carbonilo como expresión del daño oxidativo a proteínas. Estos cambios son más evidentes en el grupo de diabéticos con HbA1c > 7 % (Tabla 25)

Como se ha referido en la introducción, el conocimiento actual caracteriza el EO en la DM 1 por la disminución de los antioxidantes naturales enzimáticos (SOD, GPx y catalasa), y no enzimáticos (glutathione, ácido ascórbico,  $\alpha$ -tocoferol); por el aumento en plasma de productos derivados de la peroxidación lipídica, que puede ser medida indirectamente por la determinación de la concentración de TBARS (sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico) o directamente por la medida de malondialdehído (MDA); por la oxidación a proteínas, determinada por el aumento de grupos carbonilo en plasma, y más recientemente, por el daño al ADN, midiendo la concentración de 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG) y acroleína en orina.

La posible relación entre el EO y la patogenia de las complicaciones en la diabetes mellitus es referida por primera vez por JW Baynes en 1991 (27), al comprobar un aumento de determinadas moléculas derivadas de la oxidación a proteínas (N-epsilon-carboximetil-lisina (CML), N-epsilon-carboximetil-hidroxilisina y pentosidina) en el tejido colágeno. Las fuentes posibles del EO en la diabetes incluyen los radicales libres engendrados por reacciones de autoxidación de azúcares y azúcares asociados a proteína y por autoxidación de lípidos de las proteínas plasmáticas y de membrana. La relación del EO con la microangiopatía y otras complicaciones tardías de la DM fue sugerida inmediatamente después por otros estudios experimentales y en pacientes adultos. Posteriormente, esta relación

esta relación ha sido confirmada en múltiples trabajos en pacientes adultos con DM 1, y más especialmente en DM tipo 2 (28, 108, 226).

Sin embargo, los datos disponibles en niños son escasos al considerarse que el debut prepuberal era un factor protector y que el tiempo de evolución era insuficiente para el desarrollo de la microangiopatía durante la infancia. No obstante, resultados de estudios clínicos más recientes sugieren que las consecuencias fisiopatológicas de la hiperglucemia pueden comenzar poco tiempo después del inicio de la enfermedad. Por este motivo, en los últimos años se ha recomendado el estudio de alteraciones metabólicas precoces (EO, factores de crecimiento, etc.), con el objetivo de considerar posibles medidas preventivas que eviten o retrasen el desarrollo de las complicaciones diabéticas tardías.

La primera referencia de EO en niños diabéticos es la de Jos y cols en 1990 (165), que estudian la defensa antioxidante, no observando diferencias en las concentraciones eritrocitarias de SOD, GPx y glutatión-reductasa, excepto en pacientes con retinopatía demostrada, en los que la actividad de la GPx estaba disminuida. Los autores interpretan que sus resultados podrían sugerir la existencia de una relación entre el desarrollo de complicaciones microangiopáticas y la presencia en exceso de RLO y de peróxidos lipídicos.

En relación al daño oxidativo, la primera demostración en niños y adolescentes DM 1 es referida en el estudio realizado por Domínguez, Gussinyé, Ruiz y Carrascosa en 1998 (100) en 30 niños, adolescentes y adultos jóvenes diabéticos con una evolución entre 2-22 años. Este grupo demuestra un aumento de MDA y de los grupos carbonilo en niños. En este mismo estudio se comprueba una disminución de la defensa antioxidante (GPx, GSH,  $\alpha$ -tocoferol y  $\beta$ -caroteno) en el grupo de adolescentes y adultos jóvenes durante la evolución de la diabetes.

En esta memoria, no encontramos diferencias significativas para los parámetros estudiados de defensa antioxidante enzimática (GPx y GSH) ni de los antioxidantes naturales no enzimáticos ( $\alpha$ -tocoferol y  $\beta$ -caroteno). El valor de GPx en el grupo control fue de  $91,58 \pm 47,00$  U/gHb y en el grupo de diabéticos de

97,21±42,08 U/gHb; el valor medio de GSH en el grupo control fue de 1,78±0,48 micromol/gHb y en el grupo de diabéticos de 1,65±0,98 micromol/gHb. Sin embargo, tanto las concentraciones de  $\alpha$ -tocoferol como de  $\beta$ -caroteno fueron ligeramente inferiores a las del grupo control, aunque sin significación estadística. Así, los niveles de  $\alpha$ -tocoferol en el grupo de DM 1 fueron de 1,48±0,53 nmol/g Co+Tg y en el grupo control de 1,75±0,40 nmol/g Co+Tg; y en relación al  $\beta$ -caroteno, en el grupo de DM 1 fue de 1±0,46 nmol/ml y en el grupo control de 1,42±1,15 nmol/ml, lo que puede indicar un mayor consumo o menor disponibilidad de estos antioxidantes naturales (Tabla 18. Gráficas 16 y17)

En el trabajo de Jos y cols (165) tampoco encuentran diferencias en relación a la defensa antioxidante, excepto en caso de complicaciones retinianas (disminución de GPx), la ausencia de retinopatía en nuestros pacientes podría explicar que no hayamos encontrado diferencias para los parámetros estudiados (GPx y GSH). Otros autores (158), han referido diferencias para los parámetros de la defensa antioxidante, pero en relación con la presencia de cuerpos cetónicos, circunstancia que podría explicar nuestros resultados, dado que ninguno de nuestros pacientes presentó cetonemia en el momento del estudio. Sin embargo, Domínguez, Gussinyé, Ruiz y Carrascosa en 1998 (100) comprueban una disminución de la defensa antioxidante (SOD, GPx, GSH,  $\alpha$ -tocoferol y  $\beta$ -caroteno) en un grupo de adolescentes y adultos jóvenes con buen control metabólico, durante la evolución de la diabetes. Esta variabilidad en los resultados entre los distintos estudios (165, 100, 157), también referida en pacientes adultos (224, 225), puede estar en relación con diferencias en los pacientes incluidos (control metabólico, desarrollo puberal, etc.), factores nutricionales o en las propias características dinámicas de la actividad enzimática antioxidante.

Nuestros resultados como los de otros grupos (100, 116, 218, 219), muestran un incremento significativo en la concentración plasmática de MDA en el grupo de diabéticos respecto a los controles sanos. El valor medio de MDA en el grupo de diabéticos fue de 34,20±11,87 nmol/ml y en el grupo control de 25,31±6,61 nmol/ml

( $p < 0,05$ ), lo que constituye un marcador indirecto de peróxidos lipídicos y, por tanto, de la actividad de los mecanismos de peroxidación de lípidos.

Así mismo, se encuentran valores superiores de grupos carbonilo, un marcador precoz y estable de oxidación a proteínas, en pacientes diabéticos, siendo el valor medio en este grupo de  $1,51 \pm 0,54$  nmol/mg proteína y en el grupo control de  $1,17 \pm 0,20$  nmol/mg proteína ( $p < 0,05$ ). Resultados similares se han observado en pacientes DM 1 adultos y niños (100, 218).

Para estudiar la posible relación entre el EO y el grado de control metabólico se realizó un análisis univariante (Tabla 20) que no mostró correlación estadística. Sin embargo al estratificar el grupo de niños DM 1 según los niveles de HbA1c se comprobó, en el grupo de DM 1 con HbA1c  $> 7\%$  (grupos 2 y 3) una mayor concentración sérica de MDA ( $34,61 \pm 12,40$  vs  $25,31 \pm 6,61$  nmol/ml,  $p < 0,01$ ) y de grupos carbonilo ( $1,54 \pm 0,59$  nmol/mg proteína vs  $1,17 \pm 0,20$  nmol/mg proteína,  $p < 0,02$ ) y una disminución del  $\alpha$ -tocoferol ( $1,31 \pm 0,53$  vs  $1,75 \pm 0,40$ ,  $p < 0,05$ ) respecto al grupo de controles sanos.

Esta relación entre el grado de EO y el control metabólico en los pacientes DM 1 también ha sido referida por otros autores. Así, en el trabajo de C. Mylona-Karayanni y cols 2006 (250), como se ha referido anteriormente, encuentran una actividad más baja de GPx y niveles más altos de NOx y LPO también cuando comparan el subgrupo de buen/mal control metabólico con sanos. Igualmente, Erciyas y cols (116) al estudiar el efecto del control glucémico y del perfil lipídico sobre el EO en 96 niños con DM 1, encuentran que las concentraciones de MDA y el índice MDA/LDL colesterol fueron mayores en el grupo de peor control metabólico, con resultados similares entre los pacientes con mejor control glicémico y los controles sanos.

La disminución de la defensa antioxidante o su tendencia y la elevación de las concentraciones sanguíneas de MDA y de grupos carbonilo, que expresa el daño oxidativo a biomoléculas, demuestra la presencia de EO en niños y adolescentes DM

1 sin evidencia clínica de microangiopatía en los primeros años de evolución de la enfermedad y con un control metabólico adecuado y estable, por lo que según nuestros resultados, el EO está presente en niños diabéticos en los primeros años de la enfermedad y apoyan la hipótesis de que existe una relación positiva entre el daño oxidativo a biomoléculas y el control glicémico medido por la HbA1c.

No obstante, como se ha observado en estudios clínicos recientes, la capacidad antioxidante y el daño oxidativo muestran una agregación familiar, sugiriéndose que, además del control glicémico, factores genéticos puedan predisponer al EO o a sus efectos en pacientes diabéticos.



### **VI.3. Hiperfiltración renal y estrés oxidativo.**

Nuestros resultados muestran que la HF ( $CCr \geq 150$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, equivalente a +2DE del valor medio del grupo control) es una alteración funcional frecuente que hemos comprobado en el 52% de los niños y adolescentes incluidos en nuestro estudio, que puede observarse en etapas tempranas de la enfermedad (75,68±31,92 meses desde el debut diabético), en pacientes con adecuado control glicémico (HbA1c 7,96±0,68%) normotensos y sin retinopatía ni otras manifestaciones de microangiopatía.

Desde hace más de 20 años, se considera que el primer signo de ND, está representado por un aumento en la EUA, que usualmente se desarrolla “pocos años después del debut de la diabetes” (4). Sin embargo, desde una perspectiva anatómica y funcional, se sabe que el volumen renal y el del FG aumentan pronto después del inicio de la DM 1 (231, 232). Además se ha considerado que este fenómeno está particularmente acentuado, y por tanto con un potencial valor predictivo, en el conjunto de pacientes que años más tarde, desarrollaran la ND.

Estudios recientes han confirmado que el volumen renal aumentado (19, 24, 38) y la HF en pacientes DM 1 (7, 72, 90, 334) se asocian con alteraciones anatomopatológicas en etapas precoces y con un pronóstico adverso a largo plazo. Además, los pacientes con hipertrofia renal, evidenciada por ecografía, presentan un mayor aumento del FG (124, 383) y en adultos sin nefropatía se mantiene una reserva funcional renal que se pierde cuando se confirma la nefropatía clínica (306). En la actualidad algunos autores sugieren que son estas alteraciones iniciales, y especialmente la HF, el verdadero marcador precoz de ND que permite identificar subpoblaciones de pacientes DM 1 susceptibles de padecerla (278).

La incidencia de HF, se ha estimado en las diferentes series entre el 25 y el 60 % de los pacientes, dependiendo de la población estudiada (81, 132, 167) y del criterio de HF según el método empleado para medir el FG.

En la amplia serie que incluye el estudio de Oxford (n=308) (7), utilizando un criterio de HF > 125 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (medido con el Inutest<sup>®</sup>) a los 5 años de evolución de la enfermedad, el 67,8% de niños y adolescentes tuvieron evidencia de HF. Un valor similar se estimó en el estudio de Dahlquist G y cols. (90), en el que la incidencia de HF, (>125 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, considerado el límite superior normal) fue del 50 % sobre un total de 60 pacientes. En el estudio multicéntrico internacional (222), que incluye a 243 pacientes de 10 a 40 años (16,8 ± 6,0) con duración de la diabetes entre 2 y 20 años (8,0 ± 4,2) procedentes de USA, Canadá y Francia, se comprueba HF (>130 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, medido por Cr-EDTA) en el 63 % de los pacientes. Recientemente, en 54 pacientes, adultos jóvenes DM 1 normoalbuminúricos, encuentran que la HF (> 130 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, medido por aclaramiento de inulina) está presente en el 25% de los casos (362).

El mecanismo que interviene en el incremento de la filtración glomerular no está bien identificado, habiéndose sugerido una hipótesis vascular por daño del endotelio y liberación de mediadores metabólicos (148, 149, 264, 364, 332) o bien la hipertrofia renal como consecuencia de los mecanismos de retroalimentación túbulo-glomerular (287, 312, 349, 357), tal y como se ha referido en la Introducción.

Nuestros resultados muestran un incremento de las concentraciones plasmáticas de MDA, como expresión del aumento de la lipoperoxidación, y de los grupos carbonilo, indicador del daño oxidativo a proteínas, en el grupo de niños y adolescentes diabéticos con HF, definida por un CCr mayor de 150 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (Tabla 30). Las diferencias observadas entre este grupo y el de pacientes sin HF, se acompañan de una discreta correlación positiva, significativa desde el punto de vista estadístico (p<0,05), únicamente entre el CCr y las concentraciones plasmáticas de MDA. Nuestros datos son los primeros en población infantil que muestran una relación positiva entre la HF y el EO, permitiendo sugerir que entre los mecanismos de producción de la HF, el EO está implicado en la génesis de las alteraciones vasculares iniciales. En la revisión efectuada no hemos encontrado resultados de estudios clínicos que relacionen los parámetros de EO y la HF en pacientes DM 1 de corta evolución.

La constatación del daño oxidativo a macromoléculas no se acompaña de modificaciones significativas de la defensa antioxidante. Así, no se demuestran diferencias entre la actividad intraeritrocitaria de la GPx ni del GSH plasmático, en relación al grupo de niños y adolescentes sanos y de pacientes DM-1 con FG normal (CCr < 150 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) (Tabla 30). Como ya se ha comentado en el nuestro y en otros estudios, la variabilidad entre los parámetros de la defensa antioxidante es mayor, por lo que su sensibilidad como indicador de EO, es menor.

La existencia de EO, con mayor producción de RLO en etapas tempranas de la enfermedad apoya la hipótesis vascular en la génesis de la HF y de la ND. Experimentalmente en animales de laboratorio y con cultivos celulares, se ha demostrado que la normalización de la glucemia y de la producción mitocondrial de RLO en el endotelio vascular previene los tres efectos asociados al inicio de la microangiopatía: la activación de la PKC, la formación de AGE, la acumulación de sorbitol y la activación del NF-kB (261, 262, 266).

Así mismo, se ha demostrado en cultivos de células mesangiales humanas, que la hiperglucemia aumenta la producción mitocondrial de RLO y que este aumento provoca una activación de NF-kB e induce el mRNA de COX-2 que se acompaña de la producción de la enzima COX-2 y, con ella, de la síntesis de la PGE<sub>2</sub> y de otros factores de crecimiento locales, favoreciendo la hipertrofia (84, 173, 174, 315).

Todos estos datos sugieren que la producción aumentada de ROL, secundaria a la hiperglucemia crónica, juega un papel central en la patogenia de la HF observada en etapas tempranas tras el inicio de la diabetes, y que este paradigma integrado puede proporcionar un marco conceptual nuevo para la investigación y la terapéutica de la ND.

Como factores de riesgo de HF, han sido implicados, el control glicémico (HbA1c), la pubertad y la duración de la enfermedad (222). No se han encontrado asociaciones con el peso, la talla y la PA (sistólica o diastólica) en el consultorio.

Los datos disponibles sobre la relación entre la HF y el control glicémico no son totalmente uniformes (31). Algunos estudios en niños y adolescentes encuentran relación entre ambas variables (68, 88), aunque otros no la observan (7, 41, 90, 303). Se ha indicado que cuando los estudios se realizan en niños y jóvenes con DM 1 de corta duración, sí se obtiene una correlación positiva significativa entre el FG y el control metabólico (88), que se perdería al incluir pacientes adultos con evolución más prolongada o con manifestaciones clínicas de ND.

Nuestros resultados muestran una relación positiva, estadísticamente significativa entre el CCr y la HbA1c, tanto en el análisis de correlación ( $R=0,624$ ,  $p<0,001$ . Tabla 20) como en el de regresión lineal ( $r=0,52$ ,  $p<0,001$ . Gráfica 45) y que los pacientes con HF muestran un peor control glicémico que aquellos sin HF (Tabla 28).

Resultados similares se observan en el estudio de Oxford (7), en el que los pacientes con HF tuvieron un peor control glicémico, calculándose que el riesgo de HF aumentaba un 10 % por cada 1 % de incremento de la HbA1c.

El valor predictivo de la HF para la ND ha sido motivo de estudio reciente, considerándose como un predictor de MA persistente en un intervalo de evolución entre 10 y 20 años (7, 277). Así, Dahlquist G y cols. (90), comprueban que el 50 % de los pacientes con HF en un tiempo medio de evolución de 5 años, desarrollaron MA persistente o macroalbuminuria entre 25 y 39 años después. La HF ( $GFR>125$  ml/min/1,73) fue un predictor de la aparición de MA, con un valor predictivo positivo del 23 % (para microalbuminuria) y del 53 % para macroalbuminuria. El valor predictivo negativo fue del 77 %. Así mismo se ha estimado que el riesgo de desarrollar MA aumenta un 22% por cada 10 ml/min/1,73m<sup>2</sup> del FG medido a los 5 años del debut de la enfermedad (7).

En resumen, de los estudios clínicos disponibles (7, 72, 233, 303) se desprende que la HF es una condición previa al inicio de la ND, dada la fuerte relación entre el riesgo de desarrollar MA persistente entre los 5 y 10 años del debut diabético y la

existencia de HF a los 5 años y que esta relación, aparentemente, sería independiente del efecto del control glicémico.

Que la MA persistente es un buen predictor de macroproteinuria y de ND clínicamente sintomática, está universalmente aceptado, a partir de los resultados del DCCT (95). Los estudios en población infantil han destacado la marcada variabilidad de la prevalencia de la MA persistente en niños y adolescentes diabéticos con tasas entre el 3,7 % y el 30 % (36, 77, 163), aunque recientemente, con un mejor control glicémico, se refiere una proporción significativamente menor, entre el 4% y el 11,4% (7, 222). Las diferencias observadas pueden estar relacionadas además de por el control glicémico, por la propia definición de MA, la procedencia geográfica y étnica (riesgo genético), el crecimiento intrauterino (ó el peso al nacimiento) (208, 297), factores hormonales (85, 109, 296), así como por la edad al debut y el tiempo de evolución. La MA es infrecuente en niños prepuberales y en los 10 primeros años de evolución de la DM 1.

La pubertad se ha considerado como un factor favorecedor del desarrollo de complicaciones microvasculares de la DM 1 (190), desde que la primera sugerencia clínica apreció que las complicaciones diabéticas tardías raramente ocurrían antes de la pubertad. Esta observación ha sido confirmada en estudios epidemiológicos posteriores y los modelos animales también sugieren que la pubertad altera la respuesta tisular en la diabetes experimental. La pubertad, además de por el frecuente empeoramiento del control glicémico (53), se caracteriza por ser una etapa de crecimiento rápido y de múltiples modificaciones hormonales (6); circunstancias todas ellas que pueden promover el desarrollo de la microangiopatía y de otras complicaciones crónicas.

Sólo 2 de los 29 pacientes DM 1 (6,8%) presentaban MA persistente en el intervalo de tiempo estudiado (casos nº 35 y 37), ambos con HF, en edad puberal (14,2 y 17,9 años) con más de 5 años de evolución y con un control glicémico insuficiente (HbA1c 9,4%) en un de los casos. En la tabla 31 se reflejan los resultados de algunas de las variables analizadas en relación al desarrollo puberal. La edad puberal o pospuberal en el momento del estudio, se acompañó de un aumento del

IMC, de la PA, de las necesidades de insulina y de una tendencia a un peor control metabólico ( $p=0,06$ ). Además se comprobó un incremento significativo del CCr ( $p<0,01$ ) y una mayor frecuencia de HF en el grupo de puberales y pospuberales, en relación a los prepuberales (1/10 (10%), 10/13 (76,9%) y 4/6 (66,6%) respectivamente).

**Tabla 31.** Variables clínicas, CCr y marcadores de daño oxidativo a biomoléculas según la edad puberal.

	<b>PREPUBERALES</b> (n=10)	<b>PUBERALES</b> (n= 13)	<b>POSTPUBERALES</b> (n=6)
Meses evolución	32,0±17,23	74,82±38,82*	68,1±19,1*
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	18,24±2,83	21,86±3,34*	24,18±3,84*
PAS (mmHg)	106,6±14,65	122±7,9*	124±15*
PAD (mmHg)	54±12,50	64±7,2*	67,5±3,2*
HbA1c (%)	7,21±0,77	7,57±0,78	8,13±0,56
Insulina (UI/Kg)	0,76±0,24	1,05±0,37	1,03±0,33
CCr (ml/min/1,73m <sup>2</sup> )	131±14,03	153±18,9*	165,7±28,5*
MA (mcg/min/1,73m <sup>2</sup> )	5,99±3,95	9,42±4,71	8,3±5,8
MDA (nmol/ml)	33,88±11,42	35,98±12,50	32,41±13,1
GC (nmol/mg prot)	1,53±0,55	1,45±0,46	1,60±0,74

Sin embargo, mediante el análisis de regresión logística de COX, la pubertad, no se comportó como variable independiente del control glicémico medido por el % de HbA1c. El riesgo de HF aumenta con el incremento de la HbA1c (OR=12,10; IC 95%= 1,34-109,44;  $p<0,05$ ) (Tabla 32), por lo que el efecto de la pubertad, sobre la HF, probablemente es consecuencia del peor control glicémico observado en este grupo.

**Tabla 32.** Riesgo de hiperfiltración renal (Regresión logística de Cox)

Variable	O.R.	I.C. 95%		p
		Inferior	Superior	
HbA1c (%)	12,10	1,34	109,44	<0,05
Edad (años)	1,09	0,83	1,43	NS
Evolución (meses)	1,05	0,99	1,10	NS

Algunos estudios clínicos en los últimos 25 años, pero no todos, sugieren que la diabetes prepuberal contribuye en menor medida al desarrollo de complicaciones microvasculares que el período puberal y pospuberal. Algunos estudios epidemiológicos concluyen que el inicio de la DM en niños pequeños, < 5 años, puede retrasar el desarrollo de las complicaciones crónicas, tales como la MA y la retinopatía y en los resultados recientemente analizados del registro sueco (342) , sobre 4.414 pacientes, de los que 33 desarrollaron IRT, ninguno con edad al debut < de 5 años, presentó IRT entre los 15 y 27 años de evolución.

Sin embargo, es bien conocido que durante la pubertad la MA puede ser transitoria y puede normalizarse hasta en un 58 % de jóvenes DM 1 al finalizar la pubertad (277, 278). En la actualidad se desconoce el significado de esta MA transitoria a largo plazo sin que pueda descartarse que bajo condiciones desfavorables (mal control metabólico, aumento de la PA) estos pacientes puedan progresar a ND (90).

Por esta observación, se ha sugerido que en niños y adolescentes, la MA puede no tener el mismo valor predictivo de ND, haciendo necesario redefinirla y/o investigar otros aspectos, de inicio más temprano, mas consistentes y con una variabilidad menor a fin de identificar de forma precoz el riesgo de ND.

En este sentido ha recibido atención el significado de cifras “elevadas” de MA, aunque dentro del intervalo de normalidad y, su relación con la HF o el control glicémico como predictor de MA persistente. Aunque este aspecto no está bien analizado en los estudios clínicos disponibles, algunas observaciones deben destacarse.

En el estudio de Dahlquist G y cols. (90), los pacientes que desarrollaron MA persistente y macroalbuminuria tuvieron una excreción inicial de MA mayor que los que se mantuvieron normoalbuminúricos a los 25-35 años. Un valor de MA > 15 mg/min con un tiempo medio de evolución de 8 años tuvo valor predictivo positivo de MA persistente de 93 % y un valor predictivo negativo de 78 %. El valor predictor de la MA inicial (>15 mg/min) fue superior al de la HF para estimar el riesgo de MA persistente o macroalbuminuria a los 29 años de evolución

Nuestros resultados muestran que entre los pacientes normoalbuminúricos, la EUA media fue mayor entre aquellos que presentaban HF que entre los pacientes con CCr normal y el grupo control ( $9,53 \pm 5,33$ ,  $6,44 \pm 3,70$  y  $3,78 \pm 2,01$  mcg/min/1,73m<sup>2</sup> respectivamente) (Tabla 29 y gráfica 44).

La mayor eliminación urinaria de MA entre algunos niños y adolescentes DM 1, asociada a la HF, puede tener un interés pronóstico y apoyarían la conveniencia de redefinir el significado de MA en la DM 1, considerándola como un “continuum” de forma similar a lo que sugieren las más recientes observaciones y recomendaciones sobre la HTA en la población general (360).

Aunque no referido en las recomendaciones existentes, creemos de interés destacar con nuestros resultados, la discordancia observada según se exprese la MA por unidad de tiempo (mg/min/1,73 m<sup>2</sup>) o mediante el cociente MA/Creatinina (mg/g Cr). Nuestros cálculos indican que el estado de HF subestima la MA cuando ésta se expresa en mg/g Cr, dado que la creatinuria aumenta. Por el contrario, cuando la EUA se expresa por unidad de tiempo el valor refleja la eliminación urinaria real de albúmina. Esta circunstancia, tiene un interés clínico evidente y puede explicar la observación de que en la evolución más prolongada de la DM, al desaparecer la HF y con FG normales, la MA aumente significativamente si se expresa por unidad de Cr (7, 35). Estos autores (7) refieren en su estudio longitudinal (aproximadamente 10 años de evolución de la DM y en relación a los valores obtenidos a los 5 años de evolución de la DM), el FG disminuyó en los 102 sujetos estudiados una media de 29,7 ml/min/1,73 (CI 20,7-38,6, P<0,001), equivalente a



una disminución media anual de 3,4 ml/min/1,73). Este descenso se acompañó de un aumento medio de la MA de 3,2 mg/mmol Cr (CI 95 % 0,4-5,9, p=0,03).

Por ello es de interés destacar que la reducción del FG se considera actualmente como un marcador de ND independiente del valor de la MA. En este sentido, puede entenderse que la observación de un descenso del FG, incluso una disminución más rápida desde un estado de HF previo, puede ser un marcador precoz que debe considerarse en la evaluación periódica de pacientes DM 1 (55, 302).

Aunque no han sido objeto de estudio en la presente memoria, diversas aportaciones recientes sobre la hipertrofia renal y el registro de la PA ambulatoria, por su indudable interés clínico, requieren algunas consideraciones.

La hipertrofia renal se reconoce, desde las primeras observaciones de Mogensen (232), como un hallazgo frecuente y detectable en etapas tempranas en niños diabéticos, y aunque no se ha incluido entre los parámetros recomendables en la evaluación periódica de estos pacientes, ha recibido atención en estudios clínicos recientes. El interés ha sido principalmente motivado por los resultados de laboratorio en la diabetes experimental en ratas, que sugieren que la hipertrofia tubular sería la alteración inicial, previa a la HF glomerular en una hipótesis unitaria de la patogenia de la ND, como se ha referido en la introducción.

En relación con ello, las recientes observaciones de Zerbini y cols. (383) en 146 niños y jóvenes diabéticos, con duración media de la enfermedad de  $9,5 \pm 4,4$  años, muestran un aumento del volumen renal, medido por ecografía, frente a los 30 controles, si bien únicamente la coexistencia de HF y su disminución más rápida en los siguientes 5-10 años, fueron las características diferenciales entre los que desarrollaron MA persistente y los que se mantuvieron normoalbuminúricos. En opinión de los autores, estos hallazgos apoyan la hipótesis de que la hipertrofia renal precede a la HF durante el desarrollo de la nefropatía y que la disminución rápida del FG predispone a la MA, comportándose como un marcador precoz del desarrollo de la ND.

Entre los factores potencialmente implicados en la patogénesis de la ND, la PA ó la predisposición a la HTA esencial (polimorfismos genéticos del sistema renina-angiotensina) se han sugerido como candidatos mayores, como se ha comentado en el epígrafe de la Introducción (227, 228, 234, 274).

La totalidad de estudios en niños y adolescentes en las fases precoces de la diabetes, con intervalos de edad entre 10 y 18 años y duración de la enfermedad entre 2 y 14 años, no observan diferencias en los valores de PA sistólica o diastólica, obtenidas durante la exploración clínica periódica (PA casual o en el consultorio), en relación a los sujetos sanos con distribución de edad y sexo similar. (90, 321). Tampoco se ha observado correlación estadística significativa entre los valores de PA casual sistólica/diastólica con la hipertrofia renal ni con el filtrado glomerular (8). Nuestros resultados se comportan de manera similar no observando diferencias significativas entre las mediciones observadas entre el grupo control y las de los pacientes, tanto si se estratifican por el control glicémico como por la existencia de

En los últimos años, los registros de 24 h de la PA ambulatoria (MAPA) han permitido identificar patrones característicos en niños y adultos jóvenes diabéticos (142, 204-207, 281, 353), especialmente los referidos a valores medios más elevados en la PA sistólica y/o diastólica del período día y/o noche y a la modificación circadiana con una atenuación/desaparición del descenso nocturno (nondipping) de la PA (206, 353). Estas alteraciones del registro de la MAPA se han correlacionado con la HbA1c (353), la frecuencia de HF (253) y de pacientes microalbuminúricos (206, 253) y la existencia de lesiones glomerulares y mesangiales incipientes (253) en los estudios histomorfológicos sobre la biopsia renal de adolescentes y adultos jóvenes con tiempos de evolución de la diabetes entre 8 y 20 años. Lurbe y cols (207) y otros (353) han proporcionado datos que refuerzan la utilidad de estos registros. Sus resultados muestran que las alteraciones del patrón circadiano, con atenuación o desaparición del descenso nocturno junto a la tendencia a una mayor PA sistólica, preceden a la MA por lo que pueden considerarse como un predictor precoz de ND, calculando un VPN del 91 % para el desarrollo de MA y una disminución del 70% en el riesgo de presentar esta complicación (206). Aunque los resultados son incipientes, la mayor disponibilidad de estos registros en la atención pediátrica permitirá generalizar esta

metodología a grupos mas amplios de pacientes, confirmando las observaciones anteriores e identificando grupos con mayor riesgo ante posibles agregaciones familiares (HTA, dislipemia), así como realizar recomendaciones precisas sobre la incorporación de la MAPA en la vigilancia de la DM infantil y juvenil.

El tratamiento contemporáneo de los pacientes con DM está dirigido a entretener la progresión hacia la insuficiencia renal después de iniciarse la MA y/o la proteinuria (374). No obstante en estas fases avanzadas, incluso los regímenes más estrictos no consiguen interrumpir totalmente el progreso de la enfermedad. Conocer mejor los cambios en las fases iniciales del riñón diabético puede proporcionar claves para el diagnóstico precoz y permitir iniciar tratamientos e intervenciones terapéuticas más efectivas (312).

El interés en la identificación de jóvenes diabéticos con HF es la identificación de subgrupos de pacientes con posibilidad de medidas preventivas. Parece aceptarse cada vez con mayor fuerza que la MA, considerada como el primer indicador clínico de ND, es una alteración que ya denota la presencia de lesión renal. La identificación de la HF y de su mecanismo de producción puede facilitar medidas preventivas específicas como los antioxidantes (62). Así el empleo de antioxidantes se ha ensayado en adultos y en otras enfermedades en las que el EO está implicado de forma especial, como la hipercolesterolemia y obesidad en niños y adultos. Hasta el momento y según nuestro conocimiento, esta terapéutica no ha sido empleada en niños diabéticos con este objetivo, lo que abre posibles investigaciones futuras. En ratas con DM experimental con estreptozina y administración de Vit C y desferroxamia, se comprueba la disminución de RLO y de prostaglandina E (153). Sin embargo la relación observada entre la HF y el control glicémico, refuerza la recomendación de considerar el adecuado control glicémico como la medida probablemente más efectiva, hasta el momento, para prevenir el desarrollo y la progresión de la ND.

Aunque en los estudios iniciales (PA casual) no se ha observado asociación entre variaciones de la PA y la disfunción renal de la ND incipiente, de los datos

disponibles no puede excluirse la posibilidad de que la predisposición a la HTA pueda influir en estas alteraciones renales precoces.

En estudios experimentales se ha demostrado que el tratamiento de la HTA sistémica pero manteniendo la HTA y el flujo glomerular no protege contra la lesión renal, mientras que la normalización de la presión intraglomerular disminuye la progresión de la proteinuria, a pesar de la persistencia de la HF. Los IECA y los antagonistas de los receptores del angiotensinógeno-2 (ARA2) son altamente efectivos para reducir la hipertensión glomerular en diferentes modelos de lesión renal en roedores y puede explicar su eficacia en la prevención de la progresión de la MA.

En la actualidad se acepta que las estrategias de intervención primaria en aquellos pacientes con riesgo de nefropatía son la optimización del control metabólico y la inhibición del enzima de conversión de la angiotensina (65).

Estudios recientes en población infantil y adolescente, que muestran una asociación temporal entre la HF, la hipertrofia renal y el riesgo de MA persistente, sugieren que los IECA (1) y los ARA2 (57), pueden inducir un efecto favorable sobre la hemodinámica glomerular en jóvenes diabéticos inadecuadamente controlados durante la pubertad en los que persiste la HF independientemente de la existencia o no de MA (322).

Las recomendaciones de comités y asociaciones internacionales y el Consenso Español proponen que la investigación de MA se realice a los 5 años del diagnóstico (primera administración de insulina) en niños DM 1 (4, 14); al considerar a la pubertad como un factor de riesgo independiente para la MA, en esta edad la investigación debe iniciarse 1 año después del debut diabético. A partir de la primera investigación, la vigilancia se realizará anualmente si el resultado es normal. En caso de MA positiva, se repetirá tres veces al año.

Aunque actualmente se sigue considerando la medida de la MA como la piedra angular para el diagnóstico de ND incipiente, es fácilmente comprensible la importancia de contar con métodos simples y reproducibles que permitan identificar a niños y jóvenes DM 1 con riesgo de desarrollar ND, antes incluso de iniciar la MA persistente.

Con esta perspectiva en los últimos años se ha reconsiderado, a partir de diversos estudios clínico epidemiológicos, incluir en las etapas tempranas de la DM 1 marcadores precoces de ND, especialmente la HF, la hipertrofia renal (20, 29) y la monitorización de la PA ambulatoria (MAPA) (204-207).

Todas estas técnicas diagnósticas, sin riesgo para los pacientes y con escasa repercusión en las condiciones de vida de niños y jóvenes con DM 1, constituyen junto a otros métodos más complejos bioquímicos, moleculares y genéticos la nueva perspectiva en el diagnóstico de las complicaciones diabéticas tardías que pueden favorecer su prevención y tratamiento más eficaz, modificando la “historia natural” de la DM 1 (299).

#### **VI.4. Pauta para la detección precoz de la nefropatía diabética.**

Las recomendaciones actuales de comités y asociaciones internacionales y el Consenso Español, proponen sólo la determinación de MA como indicador precoz de ND, que debe realizarse a los 5 años del diagnóstico en niños DM 1; al considerar la pubertad como un factor de riesgo independiente para la MA, en esta edad la determinación debe iniciarse 1 año después del debut diabético. A partir de esta primera investigación, la vigilancia se realizará anualmente si el resultado es normal. En caso de MA positiva, se repetirá tres veces al año.

Aunque actualmente se sigue considerando la medida de la MA como piedra angular para el diagnóstico de ND incipiente, por todo lo comentado, parece conveniente contar con otros métodos, simples y reproducibles, que permitan identificar a niños y jóvenes DM 1 con riesgo de desarrollar ND, antes incluso de iniciar la MA persistente (253).

En nuestra opinión, apoyada por los resultados de esta memoria y los proporcionados en estudios recientes, creemos conveniente incluir en etapas tempranas de la DM 1 otros marcadores precoces de ND, especialmente la HF, la hipertrofia renal, y la monitorización de la PA ambulatoria. Estos marcadores deberían ser determinados en prepúberes, a los 5 años del debut diabético ó al inicio de la pubertad y en aquellos que debutan en la pubertad, en el primer año tras el inicio del tratamiento.

El FG puede ser cuantificado por métodos específicos bioquímicos y radiosotópicos de aclaramiento empleando inulina, Cr-EDTA, I-otalamato e iohexol. Estos métodos son laboriosos (perfusión i.v. continua, variaciones múltiples de la concentración plasmática o urinaria) y caros, por lo que, a pesar de sus limitaciones, el CCr es el más empleado en la práctica clínica y puede realizarse simultáneamente a la cuantificación de la MA y de otros parámetros bioquímicos sanguíneos necesarios en la vigilancia clínica y metabólica de los pacientes diabéticos. El cálculo del FG estimado a partir de la creatinina sérica, mediante la fórmula de Schwartz (311A) no ha sido validado en la niños y adolescentes con DM 1,

en los que la HF es frecuente, aunque en adultos se han empleado aproximaciones similares con distintas formulaciones matemáticas que incluyen el peso y/o la edad, aplicando factores de corrección en el caso de la mujer y la población negra americana (133). Más recientemente se ha introducido la concentración plasmática de cistatina como estimación del FG, aunque no se ha validado para trastornos renales que cursan con HF (146, 356).

La cuantificación de la MA puede realizarse en orina de 24 h, en orina nocturna minutada y en una muestra aislada. La orina de 24 h se considera el patrón oro a pesar de los errores relacionados con la recolección y el registro correcto del tiempo en el que se obtiene, aspecto que debe ser tenido en cuenta en niños preadolescentes con enuresis nocturna todavía frecuente en algunos pacientes. La concentración de MA en muestra aislada (mg/L) puede verse afectada por la dilución/concentración de la orina. Este índice se ha empleado en población adulta y se ha recomendado por ser más barata que el cociente Alb/Cr (133). Una concentración  $\geq 17$  mg/L tiene una sensibilidad del 100 % y una especificidad del 80 % para el diagnóstico de MA en relación a la muestra urinaria de 24 h, equivalente al punto de corte de 20 mcg/min en orina de 24 h (133). La cuantificación en muestra aislada, mediante el cálculo de albúmina/creatinina (mg/g), ha mostrado una buena correlación con la excreción en 24 h y se ha recomendado como el método de despistaje en todos los pacientes diabéticos (4, 133, 243). Sin embargo, nuestros resultados muestran que en pacientes con HF, esta relación subestima la EUA al aumentar desproporcionadamente la concentración de creatinina en orina.

Para la medición del tamaño renal e identificación de la hipertrofia renal, el método de elección son los ultrasonidos. Con esta técnica, el volumen renal se calcula midiendo los tres ejes ortogonales y aplicando la fórmula del ovoide, mostrando en relación al FG, una menor variabilidad, además de tratarse de un método inocuo y sin riesgo ni molestias para el paciente. Observaciones recientes sugieren que la longitud renal no muestra una correlación adecuada con el volumen renal, por lo que se precisa la medición de los tres ejes. Sin embargo, se ha

demostrado que la ecografía subestima el volumen renal y muestra una mayor variabilidad interobservador si se compara con la RMN (20, 267). A pesar de ello, los ultrasonidos se consideran el método de elección para la vigilancia periódica del tamaño renal en situaciones clínicas de disfunción renal progresiva (transplante renal, nefropatía del reflujo, displasia renal, glomerulonefritis crónica) y en aquellas otras con HF crónica, como es característico de las etapas iniciales de la DM 1 (20).

El registro de la MAPA, que puede realizarse a partir de los 46 años, va dirigido a identificar las alteraciones y patrones característicos de la DM 1, especialmente, la atenuación o desaparición del descenso nocturno, el incremento de la PA sistólica nocturna y el aumento de la PA diastólica y de la carga diastólica de 24 h. (205, 206).

El mejor conocimiento de los cambios renales en la fases iniciales de la enfermedad y la investigación temprana de los marcadores anteriormente mencionados podría proporcionar claves para un diagnóstico precoz de lesión renal, permitiendo la instauración temprana de las medidas terapéuticas ya conocidas (dieta adecuada para un control glicémico estricto, restricción proteica (80), régimen insulínico adecuado, control de peso, ejercicio físico) o bien posibilitando la investigación de otras opciones (antioxidantes, IECA...) que evitaran su instauración y/o progresión.



## **VII. CONCLUSIONES**

## VII. CONCLUSIONES

1. En niños sanos, los valores de los parámetros que informan del estrés oxidativo han sido, para la defensa antioxidante: GPx  $91,58 \pm 47$  (U/gHb), GSH  $1,78 \pm 0,48$  ( $\mu\text{mol/gHb}$ ),  $\alpha$ -tocoferol  $1,75 \pm 0,40$  (nmol/gC+Tg) y  $\beta$ -caroteno  $1,42 \pm 1,15$  (nmol/mg proteína) y para el daño a biomoléculas: MDA  $25,31 \pm 6,61$  (nmol/ml) y grupos carbonilo  $1,17 \pm 0,20$  (nmol/mg proteína).
2. En niños con DM 1, con un tiempo medio de evolución de  $58,65 \pm 34,66$  meses y un adecuado y estable control glicémico, se comprueba la existencia de estrés oxidativo definido por un aumento de MDA ( $34,20 \pm 11,87$  nmol/ml) en relación a los controles sanos ( $25,31 \pm 6,61$  nmol/ml) y un aumento de los grupos carbonilo ( $1,51 \pm 0,54$  nmol/mg proteína) en relación a los controles sanos ( $1,17 \pm 0,20$  nmol/mg proteína). Este daño oxidativo a biomoléculas, en los niños estudiados, no se acompañó de una disminución de la defensa antioxidante (GPx y GSH), no encontrándose diferencias en relación a los valores obtenidos en el grupo control. Los valores de  $\alpha$ -tocoferol y de  $\beta$ -caroteno, fueron ligeramente inferiores, aunque sin significación estadística, posiblemente en relación a su consumo aumentado y/o menor disponibilidad del aporte exógeno.
3. El daño oxidativo fue mayor en el grupo de niños DM 1 con peor control glicémico (HbA1c >7%) , comprobándose un aumento del MDA y de grupos carbonilo en relación al grupo de controles sanos ( $36,61 \pm 12,40$  vs  $25,31 \pm 6,61$  nmol/ml, y  $1,54 \pm 0,59$  vs  $1,17 \pm 0,20$  nmol/mg proteína, respectivamente,  $p < 0,02$ ).
4. Estos resultados, (aumento de MDA y grupos carbonilo y la disminución aparente de algunos parámetros de la defensa antioxidante), y su relación con el grado de control metabólico, apoyan la implicación del estrés oxidativo en la patogenia de las complicaciones tardías de la DM 1.

5. La hiperfiltración renal, es una alteración funcional frecuente que comprobamos en el 52% de los niños y adolescentes incluidos en nuestro estudio, que puede observarse en etapas tempranas de la enfermedad (75,68±31,92 meses desde el debut diabético), en pacientes con adecuado control glicémico (HbA1c 7,96±0,68%) normotensos y sin retinopatía ni otras manifestaciones de microangiopatía
6. La hiperfiltración renal, considerando como tal un CCr > 150 ml/min/1,73m<sup>2</sup>, mostró una correlación positiva y estadísticamente significativa con el grado de control glicémico medido por el % de HbA1c. Así en el grupo de niños con HbA1c <7%, el CCr fue similar al grupo de controles sanos (128,54±15,21 vs 116,65±9,76 ml/min/1,73m<sup>2</sup>), mientras que el CCr medio, tanto en el grupo de niños con HbA1c entre 7,1-8% como en el grupo con HbA1c>8%, fue superior al grupo de controles sanos (150,94±16,61 y 164,11±24,26 vs 116,65±9,76 ml/min/1,73m<sup>2</sup>).
7. La hiperfiltración renal fue observada más frecuentemente en los pacientes puberales y pospuberales (76,9% y 66,6% respectivamente) que entre los prepúberales (10%).
8. El efecto de la pubertad sobre el riesgo de hiperfiltración renal, no es independiente del grado de control glicémico, medido por la HbA1c.
9. En niños y adolescentes con DM 1 e hiperfiltración renal (CCr > 150 ml/min/1,73m<sup>2</sup>), se comprueba un incremento de las concentraciones plasmáticas de MDA (36.26±12,82 nmol/ml) y de los grupo carbonilo (1,62±0,65 nmol/mg proteína) en relación a los controles sanos (25,31±6,61 nmol/ml y 1,17±0,20 nmol/mg proteína, respectivamente) (p<0,05)
10. Estos resultados sugieren que el estrés oxidativo, secundario a la hiperglucemia crónica, interviene en la hiperfiltración renal, debiendo considerarse entre los mecanismos patogénicos de la ND.
11. La MA se observó en 2 de los 29 pacientes DM 1 (6,8%), ambos con hiperfiltración renal, en edad puberal (14,2 y 17,9 años) con más de 5 años de

evolución y con un control glicémico insuficiente (HbA1c 9,4%) en un de los casos. Entre los pacientes normoalbuminúricos, la excreción media urinaria de albúmina fue mayor entre aquellos que presentaban hiperfiltración renal que entre los pacientes con CCr normal y el grupo control ( $9,53 \pm 5,33$ ,  $6,44 \pm 3,70$  y  $3,78 \pm 2,01$  mcg/min/ $1,73\text{m}^2$  respectivamente). Esta observación pensamos permitiría identificar una subpoblación de niños y adolescentes con DM 1 con mayor riesgo de desarrollar MA persistente, aunque debe confirmarse.

- 12.** El estado de hiperfiltración renal subestima la MA cuando ésta se expresa en mg/g Cr, dado que la creatinuria aumenta, por ello, la excreción urinaria de albúmina debe expresarse por unidad de tiempo (mg/min/ $1,73\text{m}^2$ ), quedando así reflejada la eliminación urinaria real de albúmina.
- 13.** Aunque en la actualidad sólo se incluye la MA en el seguimiento de niños y adolescentes DM 1, al considerarla como el indicador más precoz de la ND, los resultados de la presente memoria, junto a otros estudios clínico-epidemiológicos recientes, sugieren que, además de la MA y con el objetivo de identificar subpoblaciones con mayor riesgo de desarrollar nefropatía diabética, deben incluirse en esta vigilancia, la estimación del FG (CCr con muestra de 24 horas), el aumento del volumen renal (hipertrofia renal), mediante ultrasonidos y la identificación de patrones característicos en el registro de la PA de 24 horas (MAPA). Estas exploraciones complementarias, deben ser realizadas en niños prepúberes, a los 5 años del debut diabético ó al inicio de la pubertad y en aquéllos que debutan en la pubertad, en el primer año tras el inicio del tratamiento.

## **VIII. BIBLIOGRAFÍA**

## **IX. BIBLIOGRAFIA**

1. ACE Inhibitors in Diabetic Nephropathy Trialist Group. Should all patients with type 1 diabetes mellitus and microalbuminuria receive angiotensin-converting enzyme inhibitors? A meta-analysis of individual patient data. *Ann Intern Med* 2001; 134: 370-379.
2. Ahmed N. Advanced glycation endproducts-role in pathology of diabetic complications. *Diabetes Res Clin Pract* 2005; 67: 3-21.
3. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2006; 29 (suppl. 1); S43-S48.
4. American Diabetes Association: Nephropathy in diabetes (Position statement). *Diabetes Care* 2004; 27 (Suppl. 1): S79 –S83.
5. American Diabetes Association: Type 2 diabetes in children and adolescents. *Pediatrics* 2000; 105: 671-680.
6. Amin R, Schultz C, Ong K, et al: Low IGF-I and elevated testosterone during puberty in subjects with type 1 diabetes developing microalbuminuria in comparison to normoalbuminuric control subjects: The Oxford Regional Prospective Study. *Diabetes Care* 2003; 26 :1.456–1.461.
7. Amin R, Turner C, van Aken S, Bahu TK, Watts A, Lindsell DR, Dalton RN, Dunger DB. The relationship between microalbuminuria and glomerular filtration rate in young type 1 diabetic subjects: The Oxford Regional Prospective Study. *Kidney Int* 2005; 68: 1.740-1.749.
8. Amin R, Williams RM, Frystyk J, et al: Increasing urine albumin excretion is associated with growth hormone hypersecretion and reduced clearance of insulin in adolescents and young adults with type 1 diabetes: The Oxford Regional Prospective Study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005; 62: 137–144.
9. Anderson S, Brenner BM. Pathogenesis of diabetic glomerulopathy: hemodynamic considerations. *Diabetes Metab Rev* 1988; 4: 163-177.
10. Araki S, Makita Y, Canani L, Ng D, Warram JH, Krolewski AS. Polymorphisms of human paraoxonase 1 gene (PON1) and susceptibility to

- diabetic nephropathy in type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia* 2000; 43: 1.540-1.543.
11. Araki S, Moczulski DK, Hanna L, Scott LJ, Warram JH, Krolewski AS. APOE polymorphisms and the development of diabetic nephropathy in type 1 diabetes: Results of case-control and family-based studies. *Diabetes* 2000; 49: 2.190-2.195.
  12. Araki S. Is glomerular filtration rate in children after 5 years of type 1 diabetes associated with development of albuminuria? *Nat Clin Pract Nephrol* 2006; 2: 242-243.
  13. Arnaud J, Fortis I, Blachier S, Kia D, Favier A. J. Simultaneous determination of retinol, alpha-tocopherol and beta-carotene in serum by isocratic high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Appl* 1991; 572: 103-116.
  14. Asociación Española de Nefrología Pediátrica. Sociedad Española de Diabetes, Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición, Sociedad Española de Hipertensión Arterial y Liga Española para la Lucha contra la HTA, Sociedad Española de Medicina Familiar y Comunitaria, Sociedad Española de Medicina Rural y Generalista y Sociedad Española de Nefrología. Documento de consenso 2002 sobre pautas de detección, prevención y tratamiento de la nefropatía diabética en España. *Nefrología* 2002; 22: 521-530.
  15. Avissar N, Ornt DB, Yagil Y, Horowitz S, Watkins RH, Kerl EA, Takahashi K, Palmer IS, Cohen HJ. Human kidney proximal tubules are the main source of plasma glutathione peroxidase. *Am J Physiol* 1994; 266: C367-C375.
  16. Aye T, Levitsky LL. Type 2 diabetes: an epidemic disease in childhood. *Curr Opin Pediatr* 2003; 15: 411-415.
  17. Azzi A, Ricciarelli R, Climent S, Özer N. Molecular basis of a-tocoferol action and its protective role against diabetic complications. En: Packer L, Rösen P, Tritschler HJ, King GL, Azzi A (Eds.): *Antioxidants in diabetes management*. New York: Marcel Dekker, Inc, 2000; 219-240.
  18. Baelde HJ, Eikmans M, Lappin DW, Doran PP, Hohenadel D, Brinkkoetter PT, Van der Woude FJ, Waldherr R, Rabelink TJ, de Heer E, Bruijn JA. Reduction

- of VEGF-A and CTGF expression in diabetic nephropathy is associated with podocyte loss. *Kidney Int* 2007; 71: 637-645.
19. Bak M, Thomsen K, Christiansen T, Flyvbjerg A: Renal enlargement precedes renal hyperfiltration in early experimental diabetes in rats. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 1.287-1.292.
  20. Bakker J, Olree M, Kaatee R, de Lange EE, Moons KGM, Beutler JJ, Beek FJA. Renal volume measurements: Accuracy and repeatability of US compared with that of MR imaging. *Radiology* 1999; 211: 623-626.
  21. Bangstad HJ, Dahl-Jorgensen K, Kjaersgaard P, Mevold K, Hanssen KF. Urinary albumin excretion rate and puberty in non-diabetic children and adolescents. *Acta Paediatr* 1993; 82: 857-862.
  22. Bank N, Lahorra MA, Aynedjian HS, Schlondorff D. Vasoregulatory hormones and the hyperfiltration of diabetes. *Am J Physiol* 1988; 254: F202-F209.
  23. Barrio R, Argente J, Muñoz MT. Diabetes Mellitus tipo 1 (II): Tratamiento. En: Argente J, Carrascosa A, Gracia R, Rodríguez F (Eds.): *Tratado de Endocrinología Pediátrica y de la Adolescencia*. 2ª edición. Barcelona, 2000; 1.237-1.266.
  24. Baumgartl HJ, Sigl G, Banholzer P, Haslbeck M, Standl E: On the prognosis of IDDM patients with large kidneys. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 630-634.
  25. Baynes JW, Thorpe SR. Oxidative stress in diabetes. En: Packer L, Rösen P, Tritschler HJ, King GL, Azzi A (Eds.): *Antioxidants in diabetes management*. New York: Marcel Dekker, Inc, 2000; 77-92.
  26. Baynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes* 1999; 48: 1-9.
  27. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 1991; 40: 405-412.
  28. Beisswenger PJ, Moore LL, Brinck-Johnsen T, Curphey TJ. Increased collagen-linked pentosidine levels and advanced glycosylation end products in early diabetic nephropathy. *J Clin Invest* 1993; 92: 212-217



29. Benitez Segura A, Martin-Comin J, Ricart Y, Gonzalez MT, Cortes M, Roca M, Diaz MC, Ramos M. Isotopic renal study in diabetic nephropathy. *Rev Esp Med Nucl* 2002; 21: 12-6.
30. Bennett PH, Haffner S, Kasiske BL, Keane, WF, Mogensen CE, Parving HH, Steffes MW, Striker GE. Screening and management of microalbuminuria in patients with diabetes mellitus: recommendations to the Scientific, Advisory Board of the National Kidney Foundation from an ad hoc committee of the Council on Diabetes Mellitus of the National Kidney Foundation. *Am J Kidney Dis* 1995; 25: 107-112.
31. Berg UB, Torbjornsdotter TB, Jaremko G, Thalme B. Kidney morphological changes in relation to long-term renal function and metabolic control in adolescents with IDDM. *Diabetologia* 1998; 41: 1.047-1.056.
32. Betteridge DJ. What is oxidative stress? *Metabolism* 2000; 49(suppl 1): 3-8.
33. Biswas SK, Lopes de Faria JB. Hypertension induces oxidative stress but not macrophage infiltration in the kidney in the early stage of experimental diabetes mellitus. *Am J Nephrol* 2006; 26: 415-422.
34. Blasco González L, López García MJ, Alpera la Cruz R, Plasencia Cochoud A, García Ballester M, Carbonell Sales MJ. Función renal en niños y adolescentes diabéticos. Relación a la duración y al control de la enfermedad. *An Esp Pediatr* 1992; 36: 460-466.
35. Bloomgarden ZT. Diabetic Nephropathy. *Diabetes Care* 2005; 28: 745-751.
36. Bognetti E, Calori G, Meschi F, Macellaro P, Bonfanti R, Chiumello G. Prevalence and correlations of early microvascular complications in young type I diabetic patients: role of puberty. *J Pediatr Endocrinol Metab* 1997; 10: 587-592.
37. Bognetti E, Meschi F, Bonfanti R, Gianolli L, Chiumello G. Decrease of glomerular hyperfiltration in short-term diabetic adolescents without microalbuminuria. *Diabetes Care* 1993; 16: 120-124.

38. Boggetti E, Zoja A, Meschi F, Paesano PL, Chiumello G: Relationship between kidney volume, microalbuminuria and duration of diabetes mellitus (Letter). *Diabetologia* 1996; 39: 1.409.
39. Borch-Johnsen K, Norgaard K, Hommel E y cols. Is diabetic nephropathy an inherited complication? *Kidney Int* 1992; 41: 719-722.
40. Bouhanick B, Gallois Y, Hadjadj S, Boux de Casson F, Limal JM, Marre M. Relationship between glomerular hyperfiltration and ACE insertion/deletion polymorphism in type 1 diabetic children and adolescents. *Diabetes Care* 1999; 22: 618-622.
41. Bouhanick B, Raguin H, Rohmer V, Ebran JM, Simard G, Limal JM. Description of microangiopathy in children with type 1 diabetes mellitus: a 19-year retrospective study. *Diabetes Metab* 2003; 29: 395-402.
42. Bouhanick B, Suraniti S, Berrut G, Bled F, Simard G, Lejeune JJ, Fressinaud P, Marre M. Relationship between fat intake and glomerular filtration rate in normotensive insulin-dependent diabetic patients. *Diabete Metab* 1995; 21: 168-172.
43. Brenner BM, Cooper ME, de Zeeuw D, Keane WF, Mitch WE, Parving HH, Remuzzi G, Snapinn SM, Zhang Z, Shahinfar S. Effects of losartan on renal and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and nephropathy. *N Engl J Med* 2001; 345: 861-869.
44. Brenner BM, Hostetter TH, Olson JL, Rennke HG, Venkatachalam MA. The role of glomerular hyperfiltration in the initiation and progression of diabetic nephropathy. *Acta Endocrinol Suppl (Copenh)* 1981; 242: 7-10.
45. Bretón I, Cambor M, De la Cuerda MC, García P. Micronutrientes antioxidantes y patología humana. *Nutr Hosp.* 2000; S1: 19-30.
46. Breyer JA, Bain RP, Evans JK, et al. Predictors of the progression of renal insufficiency in patients with insulin-dependent diabetes and overt diabetic nephropathy. *Kidney Int* 50:1651-1658, 1996

47. Brigelius R, Muckel C, Akerboom TPM, Sies H.: Identification and quantitation of glutathione in hepatic protein mixed disulfides and its relationship to glutathione disulfide. *Biochem Pharmacol* 1983; 32: 2.529-2.534.
48. Brownlee M, Cerami A, Vlassara H. Advanced glycosylation end products in tissue and the biochemical basis of diabetic complications. *N Engl J Med* 1988; 18: 1.315-1.321.
49. Brownlee M, Cerami A, Vlassara H. Advanced products of nonenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic vascular disease. *Diabetes Metab Rev* 1988; 4: 437-451.
50. Brownlee M, Vlassara H, Kooney A, Ulrich P, Cerami A. Aminoguanidine prevents diabetes-induced arterial wall protein cross-linking. *Science* 1986; 232: 1.629-1.632.
51. Brownlee M. Glycation products and the pathogenesis of diabetic complications. *Diabetes Care* 1992; 15: 1.835-1.843.
52. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001; 414: 813-820.
53. Bryden KS, Dunger DB, Mayou RA, Peveler RC, Neil HAW. Poor prognosis of young adults with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2003; 26: 1.052-1.057.
54. Canani LH, Ng DP, Smiles A, Rogus JJ, Warram JH, Krolewski AS. Polymorphism in ecto-nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 1 gene (ENPP1/PC-1) and early development of advanced diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetes* 2002; 51: 1.188-1.193.
55. Caramori ML, Fioretto P, Mauer M: Low glomerular filtration rate in normoalbuminuric type 1 diabetic patients: an indicator of more advanced glomerular lesions. *Diabetes* 2003; 52: 1.036 –1.040.
56. Carr S, Mbanya JC, Thomas T, Keavey P, Taylor R, Alberti KG, Wilkinson R. Increase in glomerular filtration rate in patients with insulin-dependent diabetes and elevated erythrocyte sodium-lithium countertransport. *N Engl J Med* 1990; 322: 500-505.

57. Casas JP, Chua W, Loukogeorgakis S, Vallance P, Smeeth L, Hingorani AD, MacAllister RJ. Effect of inhibitors of the renin-angiotensin system and other antihypertensive drugs on renal outcomes: systematic review and meta-analysis. *Lancet* 2005; 366: 2.026-2.033.
58. Castellino P, Shohat J, DeFronzo RA. Hyperfiltration and diabetic nephropathy: is it the beginning? Or is it the end? *Semin Nephrol* 1990; 10: 228-241.
59. Castiglioni A, Savazzi GM. Physiopathology and clinical aspects of diabetic nephropathy. *Nephron* 1988; 50: 151-163.
60. Ceriello A, Mercuri F, Quagliaro L, Assaloni R, Motz E, Tonutti L, Taboga C. Detection of nitrotyrosine in the diabetic plasma: evidence of oxidative stress. *Diabetologia* 2001; 44: 834-838.
61. Ceriello A. Hyperglycaemia: the bridge between non-enzymatic glycation and oxidative stress in the pathogenesis of diabetic complications. *Diabetes Nutr Metab* 1999; 12: 42-46.
62. Ceriello A. New insights on oxidative stress and diabetic complications may lead to a “causal” antioxidant therapy. *Diabetes Care* 2003; 5: 1589-1596.
63. Chase HP. Glycemic control in prepubertal years. *Diabetes care* 2003; 26: 1304-1305.
64. Cherney DZ, Sochett EB, Miller JA. Gender differences in renal responses to hyperglycemia and angiotensin-converting enzyme inhibition in diabetes. *Kidney Int* 2005; 68: 1.722-1.728.
65. Chiarelli F, Casani A, Verrotti A, Morgese G, Pinelli L. Diabetic nephropathy in children and adolescents: a critical review with particular reference to angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Acta Paediatr* 1998; 425: 42-45.
66. Chiarelli F, Catino M, Tumini S, Cipollone F, Mezzetti A, Vanelli M, Verrotti A. Advanced glycation end products in adolescents and young adults with diabetic angiopathy. *Pediatr Nephrol* 2000; 14: 841-846.
67. Chiarelli F, Cipollone F, Romano F, Tumini S, Costantini F, di Ricco L, Pomilio M, Pierdomenico SD, Marini M, Cuccurullo F, Mezzetti A. Increased

- circulating nitric oxide in young patients with type 1 diabetes and persistent microalbuminuria: relation to glomerular hyperfiltration. *Diabetes* 2000; 49: 1.258-1.263.
68. Chiarelli F, De Martino M, Mezzetti A, Catino M, Morgese G, Cuccurullo F, Verrotti A. Advanced glycation end products in children and adolescents with diabetes: Relation to glycemic control and early microvascular complications. *Journal Pediatr* 1999; 134: 486-491
  69. Chiarelli F, Di Marzio D, Santilli F, Mohn A, Blasetti A, Cipollone F, Mezzetti A, Verrotti A. Effects of irbesartan on intracellular antioxidant enzyme expression and activity in adolescents and young adults with early diabetic angiopathy. *Diabetes Care* 2005; 28: 1.690-1.697.
  70. Chiarelli F, Santilli F, Sabatino G, Blastti A, tumini S, Cipollone F, Mezzetti A, Verrotti A. Effects of vitamin E supplementation on intracellular antioxidant enzyme production in adolescents with type 1 diabetes and early microangiopathy. *Pediatr Res* 2004; 56: 720-725.
  71. Chiarelli F, Trotta D, Verrotti A, Mohn A. Treatment of hypertension and microalbuminuria in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Diabetes* 2002; 3: 113-124.
  72. Chiarelli F, Verrotti A, Morgese G. Glomerular hyperfiltration increases the risk of developing microalbuminuria in diabetic children. *Pediatr Nephrol* 1995; 9: 154-158.
  73. Chiumello G, Beccaria L, Meschi F, Mistura L, Brambilla P, Boggetti E. Etiology, diagnosis, and prevention of renal involvement in insulin-dependent diabetes mellitus. *Pediatrician* 1983-1985; 12: 199-207.
  74. Christiansen JS, Gammelgaard J, Frandsen M, Parving HH: Increased kidney size, glomerular filtration rate and renal plasma flow in short-term insulin-dependent diabetics. *Diabetologia* 1981; 20: 451– 456.
  75. Cinaz P, Hasanoglu A, Bideci A, Biberoglu G. Plasma and erythrocyte vitamin E levels in children with insulin dependent diabetes mellitus. *J Pediatr Endocrinol Metab* 1999; 12: 193-196.

76. Comper WD, Osicka TM. Detection of urinary albumin. *Adv Chronic Kidney Dis* 2005; 12: 170-176.
77. Coonrod BA, Ellis D, Becker DJ, et al. Predictors of microalbuminuria in individuals with IDDM. *Diabetes Care* 1993; 16: 1.376–1.383.
78. Cooper M.E. Importance of advanced glycation end products in diabetes-associated cardiovascular and renal disease. *Am J Hypertens* 2004; 17: 315-385.
79. Cooper ME, Bonnet F, Oldfield M, Jandeleit-Dahm K. Mechanisms of diabetic vasculopathy: an overview. *Am J Hypertens* 2001; 14: 475- 486.
80. Copeland KR, Yatscoff RW, Thliveris JA, Penner SB, Mehta A. Effect of a low protein diet on the relationship of nonenzymatic glycation to altered renal structure and function in diabetes mellitus. *J Diabet Complications* 1989; 3: 113-119.
81. Cotroneo P, Manto A, Todaro L, Manto A Jr, Pitocco D, Saponara C, Vellante C, Maussier ML, D'Errico G, Magnani P, Ghirlanda G. Hyperfiltration in patients with type I diabetes mellitus: a prevalence study. *Clin Nephrol* 1998; 50: 214-217.
82. Couper JJ, Staples AJ, Cocciolone R, Nairn J, Badcock N, Henning P. Relationship of smoking and albuminuria in children with insulin-dependent diabetes. *Diabet Med* 1994; 11: 666-669.
83. Cowie C, Port FK, Wolfe RA, Savage PJ, Moll PP, Hawthorne VM. Disparities in incidence of diabetic end-stage renal disease according to race and type of diabetes. *N Engl J Med* 1989; 321: 1.074-1.079.
84. Craven PA, Caines MA, DeRubertis FR: Sequential alterations in glomerular prostaglandin and thromboxane synthesis in diabetic rats: relationship to the hyperfiltration of early diabetes. *Metabolism* 1987; 36: 95–103.
85. Cummings EA, Sochett EB, Dekker MG, Lawson ML, Daneman D. Contribution of growth hormone and IGF-I to early diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetes* 1998; 47: 1.341-1.346.
86. Dahl-Jorgensen K, Brinchmann-Hansen O, Hanssen KF, Ganes T, Kierulf P, Smeland E, Sandvik L, Aagenaes O. Effect of near normoglycaemia for two

- years on progression of early diabetic retinopathy, nephropathy, and neuropathy: the Oslo study. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1986; 293: 1.195-1.199
87. Dahl-Jorgensen K. Diabetic microangiopathy. *Acta Paediatr* 1998; S425: 31-34.
  88. Dahlquist G, Aperia A, Broberger O, et al. Renal function in relation to metabolic control in children with diabetes of different duration. *Acta Paediatr Scand* 1983; 72:903-909.
  89. Dahlquist G, Rudberg S. The prevalence of microalbuminuria in diabetic children and adolescents and its relation to puberty. *Acta Paediatr Scand* 1987; 76: 795-800.
  90. Dahlquist G, Stattin EL, Rudberg S. Urinary albumin excretion rate and glomerular filtration rate in the prediction of diabetic nephropathy; a long-term follow-up study of childhood onset type-1 diabetic patients. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 1.382-1.386.
  91. Dandona P, Thusu K, Cook S, Snyder J, Makowski P, Armstrong D, Nicotera T. Oxidative damage to DNA in diabetes mellitus. *Lancet* 1996; 347: 444-445.
  92. Delattre J, Bonnefont-Rousselot D, Bordas-Fonfrède M, Jaudon MC. Diabète sucré et stress oxidant. *Ann Biol Clin* 1999; 57: 437-444.
  93. Di Landro D, Catalano C, Lambertini D, Bordin V, Fabián F, Naso A, Romagnoli GF. The effect of metabolic control on development and progresión of diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13 (suppl 8): 35-43.
  94. Diabetes Control and Complications (DCCT) Research Group. Effect of intensive therapy on the development and progression of diabetic nephropathy in the Diabetes Control and Complications (DCCT) Research Group. *Kidney Int* 1995; 47: 1.703-1.720.
  95. Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Research Group. Retinopathy and nephropathy in patients with type 1 diabetes four years after a trial of intensive therapy. *N Engl J Med* 2000; 342: 381-389.

96. Ditzel J, Brøchner-Mortensen J: Tubular reabsorption rates as related to elevated glomerular filtration in diabetic children. *Diabetes* 1983; 32 (Suppl. 2): 28–33.
97. Ditzel J, Schwartz M: Abnormally increased glomerular filtration rate in short-term insulin-treated diabetic subjects. *Diabetes* 1967; 16: 264–267.
98. Documento de consenso 2002 sobre pautas de detección, prevención y tratamiento de la nefropatía diabética en España. *Nefrología* 2002; 23: 521-530.
99. Doi T, Striker LJ, Gibson CC, et al: Glomerular lesions in mice transgenic for growth hormone and insulinlike growth factor-I. I. Relationship between increased glomerular size and mesangial sclerosis. *Am J Pathol* 1990; 137: 541–552.
100. Domínguez C, Ruiz E, Gussinyé M, Carrascosa A. Oxidative stress at onset and in early stages of type 1 diabetes in children and adolescents. *Diabetes Care* 1998; 21: 1.736-1.742.
101. Doria A, Onuma T, Gearin G, Freire MB, Warram JH, Krolewski AS. Angiotensinogen polymorphism M235T, hypertension, and nephropathy in insulin-dependent diabetes. *Hypertension* 1996; 27: 1.134-1.139.
102. Drummond K, Levy-Marchal C, Laborde K, Kindermans C, Wright C, Dechaux M, Czernichow P. Enalapril does not alter renal function in normotensive, normoalbuminuric, hyperfiltering type 1 (insulin-dependent) diabetic children. *Diabetologia* 1989; 32: 255-260.
103. Drummond K, Mauer M. International Diabetic Nephropathy Study Group. The early natural history of nephropathy in type 1 diabetes: II. Early renal structural changes in type 1 diabetes. *Diabetes* 2002; 51: 1.580-1.587.
104. Drummond KN, Kramer MS, Suissa S, Levy-Marchal C, Dell'Aniello S, Sinaiko A, Mauer M; International Diabetic Nephropathy Study Group. Effects of duration and age at onset of type 1 diabetes on preclinical manifestations of nephropathy. *Diabetes* 2003; 52: 1.818-1.824.
105. Du XL, Edelstein D, Rossetti L, Fantus IG, Goldberg H, Ziyadeh F, Wu J, Brownlee M. Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide



- overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Spl glycosylation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 12.222-12.226.
106. Ducic V, Grujic E. [Diseases of the kidney in children and adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus] (Abstract). *Acta Med Jugosl* 1989; 43: 265-274.
  107. Dunger DB, Schwarze CP, Cooper JD, Widmer B, Neil HA, Shield J, Edge JA, Jones TW, Daneman D, Dalton RN. Can we identify adolescents at high risk for nephropathy before the development of microalbuminuria? *Diabet Med* 2007; 24: 131-136.
  108. Dyer DG, Dunn JA, Thorpe SR, Bailie KE, Lyons TJ, McCance DR, Baynes JW. Accumulation of Maillard reaction products in skin collagen in diabetes and aging. *J Clin Invest* 1993; 91: 2463-2469
  109. Edge JA, Dunger DB, Matthews DR, et al: Increased overnight growth hormone concentrations in diabetic compared with normal adolescents. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 71: 1.356-1.362.
  110. Ekberg G, Grefberg N, Larsson LO, Vaara I. Cigarette smoking and glomerular filtration rate in insulin-treated diabetics without manifest nephropathy. *J Intern Med* 1990; 228: 211-217.
  111. Ekberg G, Sjöfors G, Grefberg N, Larsson LO, Vaara I. Protein intake and glomerular hyperfiltration in insulin--treated diabetics without manifest nephropathy. *Scand J Urol Nephrol* 1993; 27: 441-446.
  112. Elhadd TA, Jennings PE, Belch JJ. Oxidative stress and diabetic complications in young IDDM patients. *Diabetes Care* 1997; 20: 1.338-1.339.
  113. Elhadd TA, Kennedy G, Hill A, McLaren M, Newton RW, Greene SA, Belch JJ. Abnormal markers of endothelial cell activation and oxidative stress in children, adolescents and young adults with type 1 diabetes with no clinical vascular disease. *Diabetes Metab Res Rev* 1999; 15: 405-411.

114. Elhadd TA, Khan F, Kirk G, McLaren M, Newton RW, Greene SA, Belch JJ. Influence of puberty on endothelial dysfunction and oxidative stress in young patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1998; 21: 1.990-1.995.
115. Erbagci AB, Tarakçoglu M, Coskun Y, Sivasli E, Namiduru ES. Mediators of inflammation in children with type I diabetes mellitus: cytokines in type 1 diabetic children. *Clin Biochem* 2001; 34:645-650.
116. Erciyas F, Taneli F, Arslan B, Zulu Y. Glycemic control, oxidative stress, and lipid profile in children with type 1 diabetes mellitus. *Arch Med Res* 2004; 35: 134-140.
117. Favier A. Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Ann Biol Clin* 1997; 55: 9-16.
118. Feld LG. Diabetic Nephropathy. En Avner ED, Harmon WE, Niaudet P. (Eds.): *Pediatric Nephrology*. 5<sup>a</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2000; 931-939.
119. Fine L: The biology of renal hypertrophy. *Kidney Int* 1986; 29: 619-634.
120. Flyvbjerg A: Putative pathophysiological role of growth factors and cytokines in experimental diabetic kidney disease. *Diabetologia* 2000; 43: 1.205-1.223.
121. Fogarty DG, Harron JC, Hughes AE, Nevin NC, Doherty CC, Maxwell AP. A molecular variant of angiotensinogen is associated with diabetic nephropathy in IDDM. *Diabetes* 1996;45:1.204-1.208.
122. Fogarty DG, Zychma MJ, Scott LJ, Warram JH, Krolewski AS. The C825T polymorphism in the human G-protein beta3 subunit gene is not associated with diabetic nephropathy in type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia* 1998; 41: 1.304-1.308.
123. Fontserè N, Salinas I, Bonal J, Bayes B, Riba J, Torres F, Rios J, Sanmarti A, Romero R. Are prediction equations for glomerular filtration rate useful for the long-term monitoring of type 2 diabetic patients? *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 2.152-2.158.

124. Frazer FL, Palmer LJ, Clarey A, Thonell S, Byrne GC. Relationship between renal volume and increased albumin excretion rates in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2001; 14: 875-881.
125. Fujisawa T, Ikegami H, Kawaguchi Y, Hamada Y, Ueda H, Shintani M, Fukuda M, Ogihara T. Meta-analysis of "asociación" of insertion/deletion polymorphism of angiotensin I-converting enzyme gene with diabetic nephropathy and retinopathy. *Diabetologia* 1998; 41: 47-53.
126. Fumo P, Kuncio GS, Ziyadeh FN. PKC and high glucose stimulate collagen alpha 1 (IV) transcriptional activity in a reporter mesangial cell line. *Am J Physiol* 1994; 267: F632-F638.
127. Gil del Valle I, Milian L, Toledo A, Vilaró N, Tápanes R, Otero MA. Altered redox status in patients with diabetes mellitus type 1. *Pharmacol Res* 2005; 51:375-380.
128. Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G: Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 1996; 19: 257-267.
129. Glastras SJ, Mohsin F, Donaghue KC. Complications of diabetes mellitus in childhood. *Pediatr Clin N Am* 2005; 52: 1.735-1.753.
130. Gordois A, Scuffham P, Shearer A, Oglesby A. The health care cost of diabetic nephropathy in the United States and the United Kingdom. *J Diabetes Complications* 2004; 18: 18-26.
131. Gould MM, Mohamed-Ali V, Goubet SA, Yudkin JS, Haines AP. Microalbuminuria: associations with height and sex in non-diabetic subjects. *Br Med J* 1993; 306: 240-242.
132. Gragnoli G, Signorini AM, Tanganelli I, Fondelli C, Borgogni P, Borgogni L, Vattimo A, Ferrari F, Guercia M. Prevalence of glomerular hyperfiltration and nephromegaly in normo- and microalbuminuric type 2 diabetic patients. *Nephron* 1993; 65: 206-211.

133. Gross JL, de Azevedo MJ, Silveiro SP, Canani LH, Caramori ML, Zelmanovitz T. Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention, and treatment. *Diabetes Care* 2005; 28: 164-176.
134. Gunzler WA, Flohé L. Assays of glutathione peroxidase. En: *CRC Handbook of methods for oxygen radical research*. Florida: R.A. Greenwald, 1986: 285-290.
135. Halliwell B. Oxidative stress markers in human disease: Application to diabetes and to evaluation of the effects of antioxidants. En: Packer L, Rösen P, Tritschler HJ, King GL, Azzi A (Eds.): *Antioxidants in diabetes management*. New York: Marcel Dekker, Inc, 2000; 33-52.
136. Hansen KW, Mau Pedersen M, Christensen CK, Schmitz A, Christiansen JS, Mogensen CE. Normoalbuminuria ensures no reduction of renal function in type 1 (insulin-dependent) diabetic patients. *J Intern Med* 1992; 232: 161-167.
137. Hansen PM, Chowshury T, Deckert T, Hellgren A, Bain SC, Pocito F. Genetic variation of the heparan sulfate proteoglycan gene (perlecan gene). Association with urinary albumin excretion in IDDM patients. *Diabetes* 1997; 46: 1.658-1.659.
138. Hartnett ME, Stratton RD, Browne R, Rosner BA, Lanham RJ, Armstrong D. Serum markers of oxidative stress and severity of diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 2000; 23: 234-240.
139. Hata I, Kaji M, Hirano S, Shigematsu Y, Tsukahara H, Mayumi M. Urinary oxidative stress markers in young patients with type 1 diabetes. *Pediatr Int* 2006; 48: 58- 61.
140. Hernández M, Castellet J, Narvaiza JL, Rincón JM, Ruiz I, Sánchez E, Sobradillo B, Zurimendi A. Estudio longitudinal de crecimiento. Curvas de 0 a 18 años. Fundación F. Orbegozo, Bilbao. Madrid: Garsí Editorial, 1998.
141. Hoeldtke RD, Bryner KD, McNeill DR, Hobbs GR, Riggs JE, Warehime SS, Christie I, Ganser G, Van Dyke K. Nitrosative stress, uric acid, and peripheral nerve function in early type 1 diabetes. *Diabetes* 2002; 51: 2817-2825.

142. Hogan D, Lurbe E, Salabat MR, Redon J, Batle D. Circadian changes in blood pressure and their relationships to the development of microalbuminuria in type 1 diabetic patients. *Curr Diab Rep* 2002; 2: 539-544.
143. Hogg RJ, Furth S, Lemley KV, Portman R, Schwartz GJ, Coresh J, Balk E, Lau J, Levin A, Kausz A, Eknoyan G, Levey A. National kidney foundation's kidney disease outcomes quality initiative clinical practice guidelines for chronic kidney disease in children and adolescents: evaluation, classification, and stratification. *Pediatrics* 2003; 111: 1.416-1.421
144. Holl RW, Grabert M, Thon A, Heinze E. Urinary excretion of albumin in adolescents with type 1 diabetes: persistent versus intermittent microalbuminuria and relationship to duration of diabetes, sex, and metabolic control. *Diabetes Care* 1999; 22: 1.555-1.560.
145. Hollenberg NK, Price DA, Fisher NDL, et al: Glomerular hemodynamics and the renin-angiotensin system in patients with type 1 diabetes mellitus. *Kidney Int* 2003; 63: 172-178.
146. Holmquist P, Torffvit O, Sjöblad S. Metabolic status in diabetes mellitus affects markers for glomerular filtration rate. *Pediatr Nephrol* 2003; 18: 536-540.
147. Hong CY, Hughes K, Chia KS, Ng V, Ling SL. Urinary alpha (1)-microglobulin as a marker of nephropathy in type 2 diabetic Asian subjects in Singapore. *Diabetes Care* 2003;26: 338- 42.
148. Hostetter TH, Troy JL, Brenner BM: Glomerular hemodynamics in experimental diabetes mellitus. *Kidney Int* 1981; 19: 410-415.
149. Hostetter TH. Diabetic nephropathy. Metabolic versus hemodynamic considerations. *Diabetes Care* 1992; 15: 1.205-1.215.
150. Hostetter TH. Hypertrophy and hyperfunction of the diabetic kidney. *J Clin Invest* 2001; 107: 161-162.
151. Hovind P, Tarnow L, Rossing P y cols. Predictors for the development of microalbuminuria and macroalbuminuria in patients with type 1 diabetes: inception cohort study. *Br Med J* 2004; 328: 1.105.

152. Hoving P, Rossing P, Tarnow L. Remission and regression in the nephropathy of type 1 diabetes when blood pressure is controlled aggressively. *Kidney Int* 2001; 60: 277-283.
153. Iino K, Iwase M, Sonoki K, Yoshinari M, Iida M. Combination treatment of vitamin C and desferrioxamine suppresses glomerular superoxide and prostaglandin E production in diabetic rats. *Diabetes Obes Metab* 2005; 7: 106-109.
154. Ingelfinger JR. Ambulatory blood-pressure monitoring as a predictive tool. *N Engl J Med* 2002; 347: 797-805.
155. Jacobs ML, Derkx FH, Stijnen T, Lamberts SW, Weber RF. Effect of long-acting somatostatin analog (Somatulin) on renal hyperfiltration in patients with IDDM. *Diabetes Care* 1997; 20: 632-636.
156. Jacobsen P, Rossing K, Tarnow L, et al. Progression of diabetic nephropathy in normotensive type I diabetes patients. *Kidney Int* 1999; 56 (Suppl 71): S101-S105.
157. Jain SK, McVie R. Effect of glycemic control, race (white versus black), and duration of diabetes on reduced glutathione content in erythrocytes of diabetic patients. *Metabolism* 1994; 43: 306-309.
158. Jain SK, McVie R. Hyperketonemia can increase lipid peroxidation and lower glutathione levels in human erythrocytes in vitro and type 1 diabetic patients. *Diabetes* 1999; 48: 1.850-1.854.
159. Janner M, Knill SE, Diem P, Zuppinger KA, Mullis PE. Persistent microalbuminuria in adolescents with type I (insulin-dependent) diabetes mellitus is associated to early rather than late puberty. Results of a prospective longitudinal study. *Eur J Pediatr* 1994; 153: 403-408.
160. Jareño EJ, Bosch-Morell F, Fernandez-Delgado R, Donat J, Romero FJ. Serum malondialdehyde in HIV seropositive children. *Free Radic Biol Med* 1998; 24: 503-506.
161. Jawa A, Kcomt J, Fonseca VA. Diabetic nephropathy and retinopathy. *Med Clin North Am* 2004; 88: 1.001-1.036.

162. Jin Y, Moriya T, Tanaka K, Matsubara M, Fujita Y. Glomerular hyperfiltration in non-proteinuric and non-hypertensive Japanese type 2 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract.* 2006 ; 71: 264-71.
163. Jones SL, Kontessis P, Wiseman M, Dodds R, Bognetti E, Pinto J, Viberti G. Protein intake and blood glucose as modulators of GFR in hyperfiltering diabetic patients. *Kidney Int* 1992; 41: 1.620-1.628.
164. Jones SL, Viberti G. Renal functional reserve in subjects with diabetes mellitus. *Semin Nephrol* 1995; 15: 475-481.
165. Jos J, Rybak M, Patin PH, Robert JJ, Boitard C, Thevenin R. Étude des enzymes anti-oxidantes dans le diabète insulino-dépendent de l'enfant et de l'adolescent. *Diabete Metab* 1990; 16: 490-503.
166. Kalia K, Sharma S, Mistry K. Non-enzymatic glycosylation of immunoglobulins in diabetic nephropathy. *Clinica Chimica Acta* 2004; 347: 169-176.
167. Kalk WJ, Osler C, Taylor D, Panz VR, Esse JD, Reinach SG. The prevalence of micro-albuminuria and glomerular hyperfiltration in young patients with IDDM. *Diabetes Res Clin Pract* 1990; 8: 145-153.
168. Kalousová M, Skrha J, Zima T. Advanced glycation end-products and advanced oxidation protein products in patients with diabetes mellitus. *Physiol Res* 2002; 51: 597-604.
169. Khan F, Greene SA, Elhadd TA, Belch J. Impaired skin microvascular function in children, adolescents, and young adults with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2000; 23: 215-220.
170. Kernell A, Dedorsson I, Johansson B, Wickström CP, Ludvigsson J, Tuvemo T, Neiderud J, Sjöström K, Malmgren K, Kanulf P, Mellvig L, Gjötterberg M, Sule J, Persson LA, Larsson LI, Aman J, Dahlquist G. Prevalence of diabetic retinopathy in children and adolescent with IDDM. *Diabetologia* 1997; 40: 307-310.

171. Kilpatrick ES, Keevil BG, Jagger C, Spooner RJ, Small M. Determinants of raised C-reactive protein concentration in type 1 diabetes. *Q J M* 2000; 93: 231-236.
172. Kim HJ, Cho EH, Yoo JH, Kim PK, Shin JS, Kim MR, Kim CW. Proteome analysis of serum from type 2 diabetics with nephropathy. *J Proteome Res* 2007; 6: 735-743.
173. Kiritoshi S y cols. Reactive Oxygen species from mitochondria induce cyclooxygenase-2 gene expression in human mesangial cells. Potential role in diabetic nephropathy. *Diabetes* 2003; 52: 2.570–2.577.
174. Kiritoshi S, Nishikawa T, Sonoda K, Kukidome D, Senokuchi T, Matsuo T, Matsumura T, Tokunaga H, Brownlee M, Araki E. Reactive oxygen species from mitochondria induce cyclooxygenase-2 gene expression in human mesangial cells: potential role in diabetic nephropathy. *Diabetes* 2003; 52: 2.570-2.577.
175. Kleinman KS, Fine LG. Prognostic implications of renal hypertrophy in diabetes mellitus. *Diabetes Metab Rev* 1988; 4: 179-189.
176. Knowler WC, Coresh J, Elston R, Freedman BI, Iyengar SK, Kimmel PL, Olson JM, Plaetke R, Sedor JR, Seldin MF. On behalf of the Family Investigation of Nephropathy and Diabetes research group. The family investigation of nephropathy and diabetes (FIND) design and methods. *J Diabet Complications* 2005; 19: 1-9.
177. Koliakos G, Papachristou F, Papadopoulou M, Trachana V, Gaitatzi M, Sotiriou I. Electrophoretic analysis of urinary proteins in diabetic adolescents. *J Clin Lab Anal* 2001; 15: 178-183.
178. Koulouridis E. Diabetic nephropathy in children and adolescents and its consequences in adults. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2001;14 (Suppl 5): 1.367-1.377.
179. Kowluru RA, Abbas SN, Odenbach S. Reversal of hyperglycemia and diabetic nephropathy. Effect of reinstatement of good metabolic control on oxidative stress in the kidney of diabetic rats. *J Diabet Complications* 2004; 18: 282-288.



180. Koya D, Lee IK, Ishii H, Kanoh H, King GL. Prevention of glomerular dysfunction in diabetic rats by treatment with d-alpha-tocopherol. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 426-435.
181. Krolewski AS, Canessa M, Warram JH, Laffel LM, Christlieb AR, Knowler WC, Rand LI: Predisposition to hypertension and susceptibility to renal disease in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1988; 318: 140 – 145.
182. Krolewski AS, Warram JH, Christlieb AR, Busick EJ, Kahn CR. The changing natural history of nephropathy in type I diabetes. *Am J Med* 1985; 78: 785-794.
183. Krowlewski AS, Warram JH. Genetic susceptibility to diabetic kidney disease: an update. *J Diabetes Complications* 1995; 9: 2.777-2.781.
184. Kusterer K, Bojunga J, Bayer G, Konrad T, Haak T, Usadel KH, Tritschler J. Role of oxidative stress and antioxidants on adhesion molecules and diabetic microangiopathy. En: Packer L, Rösen P, Tritschler HJ, King GL, Azzi A (Eds.): *Antioxidants in diabetes management*. New York: Marcel Dekker, Inc, 2000; 205-218.
185. Lal MA, Körner A, Matsuo Y, Zelenin S, Cheng SXJ, Jaremko G, DiBona GF, Eklöf AC, Aperia A. Combined antioxidant and COMT inhibitor treatment reverses renal abnormalities in diabetic rats. *Diabetes* 2000; 49: 1.381–1.389.
186. Lane PH. Diabetic kidney disease: impact of puberty. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002; 283: F589-F600.
187. Lane PH. Pediatric aspects of diabetic kidney disease. *Adv Chronic Kidney Dis* 2005; 12: 230-235.
188. Lansang MC, Hollenberg NK: Renal perfusion and the renal hemodynamic response to blocking the renin system in diabetes: Are the forces leading to vasodilation and vasoconstriction linked? *Diabetes* 2002; 51: 2.025–2.028.
189. Laron Z, Phillip M, Kalter-Leibovici O. Diabetes mellitus (III): Complicaciones en la infancia y la adolescencia. En Argente J, Carrascosa A, Gracia R, Rodríguez F (Eds.): *Tratado de Endocrinología Pediátrica y de la Adolescencia*. 2ª ed. Barcelona: Ediciones Doyma, 2000: 1.267-1.288.

190. Lawson LM, Sochett EB, Chait PG, Balfe JW, Daneman D: Effect of puberty on markers of glomerular hypertrophy and hypertension in IDDM. *Diabetes* 1996; 45: 51–55.
191. Lawson ML, Sochett EB, Frank MR, Fry MK, Stephens D, Chaif P, Daneman D. Intensive diabetes management decreases Na-Li countertransport in young subjects with Type 1 diabetes and enlarged kidneys. *J Diab Complications* 2000; 14: 333-339.
192. Lebl J, Kolouskova S, Snajderova M. The effect of enalapril on the development of diabetic nephropathy in children and adolescents *Cesk Pediatr* 1991; 46: 149-152.
193. Lecture 2005. *Diabetologia* 2006; 49: 11-19.
194. Lee HB, Yu M, Yang Y, Jiang H. Reactive oxygen species-regulated signaling pathways in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 241-245.
195. Lehmann R, Schleicher ED. Molecular mechanism of diabetic nephropathy. *Clin Chim Acta* 2000; 297: 135-144.
196. Lervang HH, Jensen S, Brochner-Mortensen J, Ditzel J. Does increased glomerular filtration rate or disturbed tubular function early in the course of childhood type 1 diabetes predict the development of nephropathy? *Diabet Med* 1992; 9: 635-640.
197. Lervang HH, Jensen S, Brochner-Mortensen J, Ditzel J. Early glomerular hyperfiltration and the development of late nephropathy in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1988; 31: 723-729.
198. Levin BS, Anderson BJ, Butler DA, Antisdel JE, Brackett J, Laffel LMB. Predictors of glycemic control and short-term adverse outcomes in youth with type 1 diabetes. *J Pediatr* 2001; 139: 197-203.
199. Levine DZ. Hyperfiltration, nitric oxide, and diabetic nephropathy. *Curr Hypertens Rep* 2006; 8: 153-157.
200. Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, Ahn BW, Shaltiel S, Stadtman, ER. Determination of carbonyl content in oxidatively

- modified proteins. En: *Methods in Enzymology*. Vol. 186. Paker L, Glazer A. (Eds.) New York, Academic, Press, Inc., 1990: 464-478.
201. Lévy-Marchal C, Patterson CC, Green A on behalf of the EURODIAB ACE Study Group. Geographical variation of presentation at diagnosis of type 1 diabetes in children: the EURODIAB Study. *Diabetologia* 2001; 44 (Suppl. 3): B75-B80.
202. Lewis EJ, Hunsicker LG, Bain RP, Rohde RD. The effect of angiotensin-converting-enzyme inhibition on diabetic nephropathy. The Collaborative Study Group. *N Engl J Med* 1993; 329: 1.456-1.462.
203. Lorini R, d'Annunzio G, Vitali L, Scaramuzza A, Bacchella L, Zonta LA. Normal values of overnight albumin excretion rate in a sample of healthy Italian children and adolescents. *J Pediatr Endocrinol Metab* 1998; 11: 639-643.
204. Lurbe E, Redón J. Presión arterial y diabetes mellitas tipo 1: ¿qué aporta la medida de la presión arterial ambulatoria?. *Med Clin* 1999; 8: 294-296.
205. Lurbe E, Redón J, Pascual JM, Tacons J, Alvarez V. The spectrum of circadian blood pressure changes in type 1 diabetic patients. *J Hypertens* 2001; 19:1.421-1.428
206. Lurbe E, Redon J, Kesani A, Pascual JM, Tacons J, Alvarez V, Batlle D. Increase in nocturnal blood pressure and progresión to microalbuminuria in type 1 diabetes. *N Engl J Med* 2002; 347: 797-805.
207. Lurbe E, Redon J, Pascual JM, Tacons J, Alvarez V, Batlle D. Altered blood pressure during sleep in normotensive subjects with type 1 diabetes. *Hypertension* 1993; 21: 227-235.
208. Luyckx VA, Brenner BM. Low birth weight, nephron number, and kidney disease. *Kidney Int* 2005; Suppl: S68-S77.
209. Málaga S, Gamero G, Fernández N. Glomerulonefritis en las enfermedades sistémicas. En García Nieto V, Santos F (Eds.). *Nefrología pediátrica*. Madrid. Aula Médica, 2000; 185-196.

210. Mangili R, Deferrari G, Di Mario U, et al., For the Italian Microalbuminuria Study Group. Arterial hypertension and microalbuminuria in IDDM: The Italian Microalbuminuria Study. *Diabetologia* 1994; 37: 1 .015–1.024.
211. Maral J, Puget K, Michelson AM. Comparative study of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase levels in erythrocytes of different animals. *Biochem Biophys Res Commun* 1977; 22: 1.525-1.535.
212. Marczewski K, Krawczyk W, Rozyc P, Raszewski G, Grzywna R, Klimek K. Day/night ratio of microproteinuria and blood pressure rhythm in type II diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 1996; 33: 169–72.
213. Marfella R, Quagliario L, Nappo F, Ceriello A, Giugliano D. Acute hyperglycemia induces an oxidative stress in healthy subjects. *J Clin Invest* 2001; 108: 635-636.
214. Markwell MA, Haas SM, Bieber LL, Tolbert NE. A modification of the Lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples. *Anal Biochem* 1978; 87: 206-210.
215. Marra G, Cotroneo p, Pitocco D, Manto A, Di Leo M, Ruotolo V, Caputo S, Giardina B, Ghirlanda G, Santini SA. Early increase of oxidative stress and reduced antioxidant defenses in patients with uncomplicated type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2002; 25: 370-375.
216. Marre M, Bouhanick B, Berrut G, et al: Renal changes on hyperglycemia and angiotensin-converting enzyme in type 1 diabetes. *Hypertension* 1999; 33: 775–780.
217. Marre M, Hallab M, Roy J, Lejeune JJ, Jallet P, Fressinaud P. Glomerular hyperfiltration in type I, type II, and secondary diabetes. *J Diabetes Complications* 1992; 6: 19-24.
218. Martín-Gallán P, Carrascosa A, Gussinyé M, Domínguez C. Biomarkers of diabetes-associated oxidative stress and antioxidant status in young diabetic patients with or without subclinical complications. *Free Radic Biol Med* 2003; 34: 1.563-1.574.

219. Martín-Gallán P, Carrascosa A, Gussinyé M, Domínguez C. Estimation of lipoperoxidative damage and antioxidant status in diabetic children: relationship with individual antioxidants. *Free Radic Res* 2005; 39:933-942.
220. Marzano MA, Pompili M, Rapaccini GL, Covino M, Cotroneo P, Manto A, Todaro L, Ghirlanda G, Gasbarrini G. Early renal involvement in diabetes mellitus: comparison of renal Doppler US and radioisotope evaluation of glomerular hyperfiltration. *Radiology* 1998; 209: 813-817.
221. Matteucci E, Giampietro O. Oxidative stress in families of type 1 diabetic patients. *Diabetes Care* 2000; 23: 1.182-1.186.
222. Mauer M, Drummond K. The early natural history of nephropathy in type 1 diabetes. I. Study design and baseline characteristics of the study participants. *Diabetes* 2002; 51: 1.572-1.579.
223. Mauer SM, Steffes MW, Ellis EN, Sutherland DE, Brown DM, Goetz FC. Structural-functional relationships in diabetic nephropathy. *J Clin Invest* 1984; 74: 1.143-1.155.
224. Maxwell SR, Thomason H, Sandler D, Leguen C, Baxter MA, Thorpe GH, Jones AF, Barnett AH. Antioxidant status in patients with uncomplicated insulin-dependent and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Eur J Clin Invest* 1997; 27: 484-490.
225. Maxwell SR, Thomason H, Sandler D, Leguen C, Baxter MA, Thorpe GH, Jones AF, Barnett AH. Poor glycaemic control is associated with reduced serum free radical scavenging (antioxidant) activity in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Ann Clin Biochem* 1997; 34: 638-644.
226. McCance DR, Dyer DG, Dunn JA, Bailie KE, Thorpe SR, Baynes JW, Lyons TJ. Maillard reaction products and their relation to complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1993; 91: 2470-2478.
227. Miller JA, Curtis JR, Sochett EB. Relationship between diurnal blood pressure, renal hemodynamic function, and the renin-angiotensin system in type 1 diabetes. *Diabetes* 2003; 52: 1.806-1.811.

228. Miller JA, Thai K, Scholey JW. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism and the response to hyperglycemia in early type 1 diabetes. *Diabetes* 2000; 49: 1.585-1.589.
229. Miller JA. Renal response to sodium restriction in patients with early diabetes mellitus. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 749-755.
230. Miller JA: Impact of hyperglycemia on the renin angiotensin system in early human type 1 diabetes mellitus. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 1.778–1.785.
231. Mogensen CE, Andersen MJF. Increased kidney size and glomerular filtration rate in untreated juvenile diabetes: normalization by insulin-treatment. *Diabetologia* 1975; 11: 221-224.
232. Mogensen CE, Andersen MJF: Increased kidney size and glomerular filtration rate in early juvenile diabetes. *Diabetes* 1973; 22 :706 –712
233. Mogensen CE, Christensen CK, Pedersen MM, Alberti KG, Boye N, Christensen T, Christiansen JS, Flyvbjerg A, Ingerslev J, Schmitz A, et al. Renal and glyceic determinants of glomerular hyperfiltration in normoalbuminuric diabetics. *J Diabet Complications* 1990; 4: 159-165.
234. Mogensen CE, Christensen CK: Blood pressure changes and renal function in incipient and overt diabetic nephropathy. *Hypertension* 1985; 7: 64 –73.
235. Mogensen CE, Christensen CY, Vitthighus E. The stages in diabetic renal disease with emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy. *Diabetes* 1993; 32 (suppl. 2): 64-78.
236. Mogensen CE, Christiansen CK: Predicting diabetic nephropathy in insulindependent patients. *N Engl J Med* 1984; 311: 89 –93.
237. Mogensen CE, Keane WF, Bennett PH y cols. Prevention of diabetic renal disease with special reference to microalbuminuria. *Lancet* 1995; 346: 1.080-1.084.
238. Mogensen CE, Schmitz A, Christensen CK. Comparative renal pathophysiology relevant to IDDM and NIDDM patients. *Diabetes Metab Rev* 1988; 4: 453-483.

239. Mogensen CE, Vestbo E, Poulsen PL, Christiansen C, Damsgaard EM, Eiskfaer H, Froland A, Hansen KW, Nielsen S, Pedersen MM. Microalbuminuria and potential confounders. A review and some observations on variability of urinary albumin excretion. *Diabetes Care* 1995; 18: 572-581.
240. Mogensen CE. Early glomerular hyperfiltration in insulin-dependent diabetics and late nephropathy. *Scand J Clin Lab Invest* 1986; 46: 201-206.
241. Mogensen CE. Glomerular hyperfiltration in human diabetes. *Diabetes Care* 1994; 17: 770-775.
242. Mogensen CE. Microalbuminuria as a predictor of clinical diabetic nephropathy. *Kidney Int* 1987; 31: 673-689.
243. Mogensen CE. Prediction of clinical diabetic nephropathy in IDDM patients. Alternatives to microalbuminuria? *Diabetes* 1990; 39: 761-767.
244. Mogensen CE. The effect of blood pressure intervention on renal function in insulin-dependent diabetes. *Diabete Metab* 1989;15: 343-351.
245. Mollsten A, Wessman M, Svensson M, Forsblom C, Parkkonen M, Brismar K, Groop PH, Dahlquist G. Glu298Asp and NOS4ab polymorphisms in diabetic nephropathy. *Ann Med* 2006; 38: 522-528.
246. Moore THM, Shield JPH. Prevalence of abnormal urinary albumin excretion in adolescents and children with insulin dependent diabetes: the MIDAC study. *Arch Dis Child* 2000; 83: 239-243.
247. Mortensen HB, HougaardP: Comparasion of metabolic control in a cross-sectional study of 2873 children and adolescents with IDDM from 18 countries. The Hvid?re Study Group on Childhood Diabetes. *Diabetes Care* 1997; 20: 714-720.
248. Muhlhauser I, Bender R, Bott U, et al. Cigarette smoking and progression of retinopathy and nephropathy in type I diabetes. *Diab Med* 1996; 13: 536-543.
249. Muñoz MT, Argente J, Barrio R. Diabetes mellitus (III): Nutrición. En Argente J, Carrascosa A, Garcia R, Rodríguez F (Eds.): *Tratado de Endocrinología Pediátrica y de la Adolescencia*. 1ª ed. Barcelona. Ediciones Doyma, 1995: 985-994.

250. Mylona-Karayanni C, Gourgiotis D, Bossios A, Kamper EF. Oxidative stress and adhesion molecules in children with type 1 diabetes mellitus: a possible link. *Pediatr Diabetes* 2006; 7: 51-59.
251. Nakamura H, Takasawa M, Kashara S, Tsuda A, Momotsu T, Ito S, Shibata A. Effects of acute protein loads of different sources on renal function of patients with diabetic nephropathy. *Tohoku J Exp Med* 1989; 159: 153-162.
252. National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents. The Fourth Report on the Diagnosis, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure in Children and Adolescents. *Pediatrics* 2004; 114 (2 Suppl): 555-576.
253. Navarro González J, Mora Fernández C. Nefropatía diabética. En: García Nieto V, Santos Rodríguez F, Rodríguez Iturbe B (Eds.). *Nefrología pediátrica*. 2ª Ed. Madrid. Grupo Aula Médica, 2006; 391-397.
254. Ndahimana J, Dorchy H, Vertongen F. Erythrocyte and plasma antioxidant activity in diabetes mellitus type I. *Presse Med* 1996; 10:188-192.
255. Nicholson JF, Pesce MA. Pruebas de laboratorio: valores de referencia. En Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB (Eds.). *Nelson. Tratado de Pediatría*. 17ª ed. Madrid. Ediciones Elsevier, 2004: 2.396-2.426.
256. Neugebauer S, Baba T, Watanabe T. Association of the nitric oxide synthase gene polymorphism with an increase risk for progression to diabetic nephropathy in type 2 diabetes. *Diabetes* 2000; 49: 500-503.
257. Neugebauer S, Baba T, Watanabe T. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism as a risk factor for diabetic nephropathy in NIDDM patients. *Lancet* 1998; 352: 454.
258. Ng DP, Canani L, Araki S, Smiles A, Moczulski D, Warram JH, Krolewski AS. Minor effect of GLUT1 polymorphisms on susceptibility to diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetes* 2002; 51: 2.264-2.269.
259. Ng DP, Warram JH, Krolewski AS. TGF.β1 as a genetic susceptibility locus for advanced diabetic nephropathy in type 1 diabetes mellitus: An



- investigation of multiple known DNA sequence variants. *Am J Kidney Dis* 2003; 41: 22-28.
260. Nguyen G. Increased cyclooxygenase-2, hyperfiltration, glomerulosclerosis, and diabetic nephropathy: put the blame on the (pro)renin receptor? *Kidney Int* 2006; 70: 618-620.
261. Nishikawa T, Araki E. Impact of mitochondrial ROS production in the pathogenesis of diabetes mellitus and its complications. *Antioxid Redox Signal* 2007; 9: 343-353.
262. Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y, Yorek MA, Beebe D, Oates PJ, Hammes HP, Giardino I, Brownlee M: Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature* 2000; 404 :787–790.
263. Nordwall M, Bojestig M, Arnqvist HJ, Ludvigsson J; Linköping Diabetes Complications Study. Declining incidence of severe retinopathy and persisting decrease of nephropathy in an unselected population of Type 1 diabetes-the Linköping Diabetes Complications Study. *Diabetologia* 2004; 47: 1.266-1.272
264. O'Bryan GT, Hostetter TH. The renal hemodynamic basis of diabetic nephropathy. *Semin Nephrol* 1997; 17 :93–100.
265. O'Donnell MP, Kasiske BL, Keane WF. Glomerular hemodynamic and structural alterations in experimental diabetes mellitus. *FASEB J* 1988; 2: 2.339-2.347.
266. Ohshiro Y, Ma RC, Yasuda Y, Hiraoka-Yamamoto J, Clermont AC, Isshiki K, Yagi K, Arikawa E, Kern TS, King GL. Reduction of diabetes-induced oxidative stress, fibrotic cytokine expression, and renal dysfunction in protein kinase C beta-null mice. *Diabetes* 2006; 55: 3.112-3.120.
267. Okten A, Dinc H, Kul M, Kaya G, Can G. Renal duplex Doppler ultrasonography as a predictor of preclinical diabetic nephropathy in children. *Acta Radiol* 1999; 40: 246-249.
268. Olsen BS, Sjolie AK, Hougaard P, Johannesen J, Marinelli K, Jacobsen BB, Mortensen HB; Danish Study Group of Diabetes in Childhood. The

- significance of the prepubertal diabetes duration for the development of retinopathy and nephropathy in patients with type 1 diabetes. *J Diabetes Complications* 2004; 18: 160-164.
269. Orchard TJ, Dorman JS, Maser RE, et al. Prevalence of complications of IDDM by sex and duration. *Diabetes* 1990; 39: 1.116–1.124.
270. Osterholm AM, He B, Pitkaniemi J, Albinsson L, Berg T, Sarti C, Tuomilehto J, Tryggvason K. Genome-wide scan for type 1 diabetic nephropathy in the Finnish population reveals suggestive linkage to a single locus on chromosome 3q. *Kidney Int* 2007; 71: 140-145.
271. Packer L. Oxidative stress and antioxidants: The antioxidant network, a-lipoic acid, and diabetes. En Packer L, Rösen P, Tritschler HJ, King GL, Azzi A. (Eds.): *Antioxidants in Diabetes Management*. New York: Marcel Dekker, Inc, 2000: 1-16.
272. Parving HH, Jacobsen P, Tarnow L, Rossing P, Lecerf L, Poirier O, Cambien F. Effect of deletion polymorphism of angiotensin converting enzyme gene on progression of diabetic nephropathy during inhibition of angiotensin converting enzyme: Observational follow-up study. *BMJ* 1996; 313: 591-594.
273. Parving HH. Diabetic nephropathy: Prevention and treatment. *Kidney Int* 2001; 2.041-2.055.
274. Pecis M, Azevedo MJ, Gross JL: Glomerular hyperfiltration is associated with blood pressure abnormalities in normotensive normoalbuminuric IDDM patients. *Diabetes Care* 1997; 20: 1.329–1.333.
275. Pecis M, de Azevedo MJ, Gross JL. Chicken and fish diet reduces glomerular hyperfiltration in IDDM patients. *Diabetes Care* 1994; 17: 665-672.
276. Penders J, Delanghe JR. Alpha 1-microglobulin: clinical laboratory aspects and applications. *Clinica Chimica Acta* 2004; 346: 107– 118.
277. Perkins BA, Ficoceillo LH, Silva KH et al. Regression of microalbuminuria in type 1 diabetes. *N Engl J Med* 2003; 348: 2.285-2.293.

278. Perkins BA, Krolewski AS. Early nephropathy in type 1 diabetes: a new perspective on who will and who will not progress. *Curr Diab Rep* 2005; 5: 455-463.
279. Pettitt DJ, Saad MF, Bennett PH, Nelson RG, Knowler WC. Familial predisposition to renal disease in two generations of Pima Indians with Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1990; 33: 438-443.
280. Phillips M, Cataneo RN, Cheema T, Greenberg J. Increased breath biomarkers of oxidative stress in diabetes mellitus. *Clin Chim Acta* 2004; 344: 189-194.
281. Pietrzak I, Szadkowska A, Kozłowski J, Kowalewska-Pietrzak M, Bodalski J. The influence of systemic blood pressure on renal function in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Pol Merkur Lekarski*. 2003; 14: 210-212 (Abstract , PubMed).
282. Pinkney JH, Downs L, Hopton M, Mackness MI, Bolton CH. Endothelial dysfunction in Type 1 diabetes mellitus: relationship with LDL oxidation and the effects of vitamin E. *Diabet Med* 1999; 16: 993-999.
283. Pistrosch F, Herbrig K, Kindel B, Passauer J, Fischer S, Gross P. Rosiglitazone improves glomerular hyperfiltration, renal endothelial dysfunction, and microalbuminuria of incipient diabetic nephropathy in patients. *Diabetes* 2005; 54: 2.206-2.211.
284. Prabhakar SS. Role of nitric oxide in diabetic nephropathy. *Semin Nephrol* 2004; 24: 333-344.
285. Pyke DA, Tattersall RB. Diabetic retinopathy in identical twins. *Diabetes* 1973; 22: 613-618.
286. Raj DS, Choudhury D, Welbourne TC, Levi M. Advanced glycation end products: a Nephrologist's perspective. *Am J Kidney Dis* 2000; 35: 365-80.
287. Rasch R, Dørup J: Quantitative morphology of the rat kidney during diabetes mellitus and insulin treatment. *Diabetologia* 1997; 40: 802– 809.
288. Remuzzi G, Benigni A, Remuzzi A. Mechanisms of progression and regression of renal lesions of chronic nephropathies and diabetes. *J Clin Invest* 2006; 116: 288-296.

289. Renal Data System. USRDS 1998 Annual Data Report. NIH Publication No. NIDDK 98-3.176. Bethesda, National Institutes of Health, 1998.
290. Rewers A, Chase P, Mackenzie T, Walravens P, Roback M, Rewers M, Hamman RF, Klingensmith G. JAMA 2002; 287: 2511-2518.
291. Reyes AA, Karl IE, Kissane J, Klahr S. L-arginine administration prevents glomerular hyperfiltration and decreases proteinuria in diabetic rats. J Am Soc Nephrol 1993; 4: 1.039-1.045.
292. Rodriguez F, Torres ML. Diabetes Mellitus (I): Estudio general. En Argente J, Carrascosa A, Gracia R, Rodríguez F: Tratado de Endocrinología Pediátrica y de la Adolescencia. 2ª ed. Barcelona. Ediciones Doyma, 2000: 1.203-1.236.
293. Romero D, Villalba MP, Camacho C, Gonzalez F. Oxidative stress and its relation to pediatric pathology. An Esp Pediatr 1992; 36: 85-97.
294. Rösen P, Du X, Sui G. Oxidative stress in diabetes: why does hyperglycemia induce the formation of reactive oxygen species? En Packer L, Rösen P, Tritschler HJ, King GL, Azzi A. (Eds.): Antioxidants in Diabetes Management. New York: Marcel Dekker, Inc, 2000: 17-32.
295. Rosilio M, Cotton JB, Wieliczko MC, Gendrault B, Carel JC, Couvaras O, Ser N, Bougneres PF, Gillet P, Soskin S, Garandeau P, Stuckens C, Le Luyer B, Jos J, Bony-Trifunovic H, Bertrand AM, Leturcq F, Lafuma A: A Cross-sectional nationwide study in 2,579 French children with type 1 diabetes. J Pediatr 2001; 139: 197-203.
296. Rossing P, Tarnow L, Nielsen FS, Boelskifte S, Brenner BM, Parving HH. Short stature and diabetic nephropathy. Br Med J 1995; 310: 296-297.
297. Rossing P, Tarnow L, Nielsen FS, Hansen BV, Brenner BM, Parving HH. Low birth weight. A risk factor for development of diabetic nephropathy? Diabetes 1995; 44: 1.405-1.407.
298. Rossing P. The changing epidemiology of diabetic microangiopathy in type 1 diabetes. Diabetologia 2005; 48: 1.439-1.444.
299. Rossing P. Prediction, progression and prevention of diabetic nephropathy. Diabetologia 2006; 49: 11-19.

300. Rudberg S, Dahlquist G, Aperia A, Persson B. Reduction of protein intake decreases glomerular filtration rate in young type 1 (insulin-dependent) diabetic patients mainly in hyperfiltering patients. *Diabetologia* 1988; 31: 878-883.
301. Rudberg S, Österby R, Dahlquist G, Nyberg G, Person B. Predictors of renal morphological changes in the early stage of microalbuminuria in adolescents with IDDM. *Diabetes Care* 1997; 20: 265-271.
302. Rudberg S, Osterby R. Decreasing glomerular filtration rate--an indicator of more advanced diabetic glomerulopathy in the early course of microalbuminuria in IDDM adolescents? *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 1.149-1.154.
303. Rudberg S, Persson B, Dahlquist G. Increased glomerular filtration rate as a predictor of diabetic nephropathy. An 8-year prospective study. *Kidney Int* 1992; 41: 822-828.
304. Ruggenenti P, Perna A, Zoccali C, et al: Chronic proteinuric nephropathies. II. Outcomes and responses to treatment in a prospective cohort of 352 patients: differences between men and women in relation to ACE gene polymorphism. Gruppo Italiano di Studi Epidemiologici in Nefrologia (Gisen). *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 88-96.
305. Sabbatini M, Sansone G, Uccello F, Giliberti A, Conte G, Andreucci VE. Early glycosylation products induce glomerular hyperfiltration in normal rats. *Kidney Int* 1992; 42: 875-881.
306. Sackmann H, Tran-Van T, Tack I, Hanaire-Broutin H, Tauber JP, Ader JL. Renal functional reserve in IDDM patients. *Diabetologia* 1998; 41: 86-93.
307. Sackmann H, Tran-Van T, Tack I, Hanaire-Broutin H, Tauber JP, Ader JL. Contrasting renal functional reserve in very long-term Type I diabetic patients with and without nephropathy. *Diabetologia*. 2000; 43: 227-230.
308. Sallstrom J, Carlsson PO, Fredholm BB, Larsson E, Persson AE, Palm F. Diabetes-induced hyperfiltration in adenosine A(1)-receptor deficient mice lacking the tubuloglomerular feedback mechanism. *Acta Physiol (Oxf)* 2007; 190: 253-259.

309. Samnegard B, Jacobson SH, Jaremko G, Johansson BL, Ekberg K, Isaksson B, Eriksson L, Wahren J, Sjoquist M. C-peptide prevents glomerular hypertrophy and mesangial matrix expansion in diabetic rats. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 532-538.
310. Samnegard B, Jacobson SH, Johansson BL, Ekberg K, Isaksson B, Wahren J, Sjoquist M. C-peptide and captopril are equally effective in lowering glomerular hyperfiltration in diabetic rats. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19: 1.385-1.391.
311. A) Santos F, García Nieto V. Función renal basal. En: García Nieto V, Santos Rodriguez F, Rodriguez Iturbe B (Eds.). *Nefrología pediátrica*. 2ª Ed. Madrid. Grupo Aula Médica, 2006; 39-49.
311. B) Santos MT, Valle J, Aznar T. Valoración espectrofotométrica del MDA plasmático Basal. *Rev Diag Biol* 1980; 1: 57-59.
312. Satriano J, Vallon V. Primary kidney growth and its consequences at the onset of diabetes mellitus. *Amino Acids* 2006; 31: 1-9.
313. Satriano J. Kidney growth, hypertrophy and the unifying mechanism of diabetics complications. *Amino Acids* 2007;19
314. Sawicki PT, Heinemann L, Rave K, Hohmann A, Berger M. Atrial natriuretic factor in various stages of diabetic nephropathy. *J Diabet Complications* 1988; 2: 207-209.
315. Schambelan M, Blake S, Sraer J, Bens M, Nivez MP, Wahbe F: Increased prostaglandin production by glomeruli isolated from rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1985; 75: 404-412.
316. Schena FP, Gesualdo L. Pathogenetic mechanisms of diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2005; 16 (Suppl 1): S30-S33.
317. Schmidt S, Bluthner M, Giessel R, Strojek K, Bergis KH, Grzeszczak W, Ritz E. A polymorphism in the gene for the atrial natriuretic peptide and diabetic nephropathy. Diabetic Nephropathy Study Group. *Nephrol Dial Trnsplant* 1998; 13: 1.807-1.810.

318. Schrijvers BF, De Vriese AS, Flyvbjerg A. From hyperglycemia to diabetic kidney disease: The role of metabolic, hemodynamic, intracellular factors and growth factors/cytokines. *Endocr Rev* 2004; 25: 971-1.010.
319. Schultz CJ, Konopelska-Bahu T, Dalton RN, et al: Microalbuminuria prevalence varies with age, sex, and puberty in children with type 1 diabetes followed from diagnosis in a longitudinal study. Oxford Regional Prospective Study Group. *Diabetes Care* 1999; 22: 495-502.
320. Schultz CJ, Neil HA, Dalton RN, Dunger DB; Oxford Regional Prospective Study Group. Risk of nephropathy can be detected before the onset of microalbuminuria during the early years after diagnosis of type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2000; 23: 1.811-1.815.
321. Schultz CJ, Neil HA, Dalton RN, et al: Blood pressure does not rise before the onset of microalbuminuria in children followed from diagnosis of type 1 diabetes. Oxford Regional Prospective Study Group. *Diabetes Care* 2001; 24: 555-560.
322. Schwieger J, Fine LG. Renal hypertrophy, growth factors, and nephropathy in diabetes mellitus. *Semin Nephrol* 1990; 10: 242-253.
323. Seaquist ER, Gotees FC, Rich S, Barbosa J. Familial clustering of diabetic kidney disease: Evidence of genetic susceptibility to diabetic nephropathy. *N Engl J Med* 1989; 320: 1.161-1.165.
324. Segev Y, Landau D, Rasch R, et al: Growth hormone receptor antagonism prevents early renal changes in nonobese diabetic mice. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 2.374-2.381.
325. Seghieri G, Di Simplicio P, Anichini R. Platelet antioxidant enzymes in insulin-dependent diabetes mellitus. *Clin Chim Acta* 2001; 309: 19-23.
326. Seliger SL, David C, Stehman-Breen C. Gender and the progression of kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2001; 10: 219-255.
327. Sell DR, Lapolla A, Odetti P, Fogarty J, Monnier VM. Pentosidine formation in skin correlates with severity of complications in individuals with long-standing IDDM. *Diabetes* 1992; 41: 1286-1292.

328. Shah S, Paparello J, Danesh FR. Effects of statin therapy on the progression of chronic kidney disease. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2005; 12: 187-195.
329. Shichiri M, Iwamoto H, Marumo F. Diabetic hypouricemia as an indicator of clinical nephropathy. *Am J Nephrol* 1990; 10: 115-122.
330. Sinha AK, Scharschmidt LA, Neuwirth R, Holthofer H, Gibbons N, Arbeeny CM, Schlondorff D. Effects of fish oil on glomerular function in rats with diabetes mellitus. *J Lipid Res* 1990; 31: 1.219-1.228.
331. Smoyer WE, Brouhard D, Rassin DK, Lagrone L. Enhanced GFR response to oral versus intravenous arginine administration in normal adults. *J Lab Clin Med* 1991; 118: 166-175.
332. Sochett EB, Cherney DZ, Curtis JR, Dekker MG, Scholey JW, Miller JA. Impact of renin angiotensin system modulation on the hyperfiltration state in type 1 diabetes. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 1.703-1.709.
333. Solerte SB, Severgnini S, Locatelli M, Cerutti N, Rondanelli M, Netti MA, Ferrari E, Fioravanti M. Nephelometry in the clinical assessment of glomerular proteinuria and tubular function in diabetic nephropathy. *Clin Nephrol* 1997; 48: 151-158.
334. Steinke JM, Sinaiko AR, Kramer MS, Suissa S, Chavers BM, Mauer M, the International Diabetic Nephropathy Study Group: The early natural history of nephropathy in type 1 diabetes. III. Predictors of 5-year urinary albumin excretion rate patterns in initially normoalbuminuric patients. *Diabetes* 2005; 54: 2.164 –2.171.
335. Sterling MA. Diabetes mellitus. En: Sterling MA (Ed). *Pediatric Endocrinology*. 2<sup>a</sup> ed. Philadelphia. Saunders, 2002; 323-366.
336. Strippoli GF, Bonifati C, Craig M, Navaneethan SD, Craig JC. Angiotensin converting enzyme inhibitors and angiotensin II receptor antagonists for preventing the progression of diabetic kidney disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; 18 :CD006257.
337. Sugimoto H, Shikata K, Hirata K, Akiyama K, Matsuda M, Kushiro M, Shikata Y, Miyatake N, Miyasaka M, Makino H. Increased expression of intercellular



- adhesion molecule-1 (ICAM-1) in diabetic rat glomeruli: glomerular hyperfiltration is a potential mechanism of ICAM-1 upregulation. *Diabetes* 1997; 46: 2.075-2.081.
338. Sugimoto H, Shikata K, Matsuda M, Kushiro M, Hayashi Y, Hiragushi K, Wada J, Makino H. Increased expression of endothelial cell nitric oxide synthase (ecNOS) in afferent and glomerular endothelial cells is involved in glomerular hyperfiltration of diabetic nephropathy. *Diabetologia* 1998; 41: 1.426-1.434.
  339. Susztak K, Böttinger EP. Diabetic nephropathy: A frontier for personalized medicine. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 361-367.
  340. Susztak K, Sharma K, Schiffer M, McCue P, Ciccone E, Böttinger E. Genomic strategies for diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: S271-S278.
  341. Svensson M, Ericsson JW, Dahlquist G. Early glycemic control, age at onset, and development of microvascular complications in childhood-onset type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27: 955-962.
  342. Svensson M, Nyström L, Schön S, Dahlquist G. Age at onset of childhood-onset type 1 diabetes and the development of end-stage renal disease. A nationwide population-based study. *Diabetes Care* 2006; 29: 538-542.
  343. Svoren BM, Butler D, Levine BS, Anderson BJ, Laffel LMB. Reducing acute adverse outcomes in youths with type 1 diabetes: A randomized, controlled trial. *Pediatrics* 2003; 112: 914-922.
  344. Tarnow L, Gluud C, Parving HH. Diabetic nephropathy and the insertion/deletion polymorphism of the angiotensina-converting enzyme gene. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 1.125-1.130.
  345. Tarnow L, Pocit F, Hansen PM, Rossing P, Nielsen FS, Hanse BV, Parving HH. Polymorphisms in the interleukin-1 gene cluster do not contribute to the genetic susceptibility of diabetic nephropathy in Caucasian patients with IDDM. *Diabetes* 1997; 46: 1.075-1.076.
  346. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-

- term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993; 329: 977-986.
347. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1997; 20: 1.183-1.197.
348. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2003; 26: 3.160-3.167.
349. Thomas MC, Burns WC, Cooper ME. Tubular changes in early diabetic nephropathy. *Adv Chronic Kidney Dis* 2005; 12: 177-186.
350. Thomson SC, Deng A, Bao D, Satriano J, Blantz RC, Vallon V. Ornithine decarboxylase, kidney size, and the tubular hypothesis of glomerular hyperfiltration in experimental diabetes. *J Clin Invest* 2001; 107: 217-224.
351. Thomson SC, Vallon V, Blantz RC. Kidney function in early diabetes: the tubular hypothesis of glomerular filtration. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 286: F8-F15.
352. Thongboonkerd V, Malasit P. Renal and urinary proteomics: current applications and challenges. *Proteomics* 2005; 5: 1.033-1.042.
353. Torbjornsdotter TB, Jaremko GA, Berg UB. Nondipping and its relation to glomerulopathy and hyperfiltration in adolescents with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27: 510-516.
354. Tsukahara H, Sekine K, Uchiyama M, Kawakami H, Hata I, Todoroki Y, Hiraoka M, Kaji M, Yorifuji T, Momoi T, Yoshihara K, Beppu M, Mayumi M. Formation of advanced glycosylation end products and oxidative stress in young patients with type 1 diabetes. *Pediatr Research* 2003; 54: 419-424.
355. UK Prospective Diabetes Study Group. Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. *BMJ* 1998; 317: 703-713.

356. Uslu S, Efe B, Alatas O, Keabpci N, Colak O, Demirüstü C, Yörük A. FERUM cystatin C and urinary enzymes as screening markers of renal dysfunction in diabetic patients. *J Nephrol* 2005; 18: 559-567.
357. Vallon V, Blantz RC, Thomson SC: Glomerular hyperfiltration and the salt paradox in early type 1 diabetes mellitus: a tubulo-centric view. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 530 -537.
358. VanderJagt DJ, Harrison JM, Ratliff DM, Hunsaker LA, VanderJagt DL. Oxidative stress indices in IDDM subjects with and without long-term diabetic complications. *Clin Biochem* 2001; 34: 265-270.
359. Varvarovská J, Racek J, Stozický F, Soucek J, Trefil L, Pomahacová R. Parameters of oxidative stress in children with type 1 diabetes mellitus and their relatives. *J Diabet Complications* 2003; 17: 7-10.
360. Vasan R, Larson M, Leip E, Evans J, O'Donnell C, Kannel W, Levy D. Impact of high-normal blood pressure on the risk of cardiovascular disease. *N Engl J Med* 2001; 345: 1.291-1.297.
361. Vasavada N, Argarwal R. Role of oxidative stress in diabetic nephropathy. *Adv Chronic Kidney Dis* 2005; 12: 146-154.
362. Vervoort G, Veldman B, Berden JH, Smits P, Wetzels JF. Glomerular hyperfiltration in type 1 diabetes mellitus results from primary changes in proximal tubular sodium handling without changes in volume expansion. *J Clin Invest* 2005; 35: 330-336.
363. Vitali L, De Amici M, D'Annunzio G, Martinetti M, Alibrandi A, Lorini R. Low serum TNF- $\alpha$  levels in subjects at risk for type 1 diabetes. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2000; 13: 475-481.
364. Wahren J, Ekberg K, Samnegard B, Johansson BL. C-peptide: a new potential in the treatment of diabetic nephropathy. *Curr Diab Rep* 2001; 1: 261-266.
365. Wang PH. When should ACE be given to normotensive patients with IDDM. *Lancet* 1997; 349: 1.782.

366. Wang SN, Hirschberg R. Growth factor ultrafiltration in experimental diabetic nephropathy contributes to interstitial fibrosis. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000; 278: 554-560.
367. Wardle EN. How does hyperglycaemia predispose to diabetic nephropathy? *QJM* 1996; 89: 943-951.
368. West I.C. Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabet Med* 2000; 17: 171-180.
369. Willems D, Dorchy H, Dufrasne D. Serum antioxidant status and oxidized LDL in well-controlled young type 1 diabetic patients with and without subclinical complications. *Atherosclerosis* 1998; 137 (suppl): 61-64.
370. William J, Hogan D, Battle D. Predicting the development of diabetic nephropathy and its progression. *Adv Chronic Kidney Dis* 2005; 12: 202-211.
371. Wills CJ, Scout A, Swift PFG, Davies MJ, Mackie ADR, Mansell P. Retrospective review of care and outcomes in young adults with type 1 diabetes. *Br Med J* 2003; 327: 260-261.
372. Wiseman MJ, Redmond S, House F, Keen H, Viberti GC. The glomerular hyperfiltration of diabetes is not associated with elevated plasma levels of glucagon and growth hormone. *Diabetologia* 1985; 28: 718-721.
373. Wittenstein B, Klein M, Finckh B, Ullrich K, Kohlschütter A. Plasma antioxidants in pediatric patients with glycogen storage disease, diabetes mellitus, and hypercholesterolemia. *Free Radic Biol Med* 2002; 33: 103-110.
374. Wittmann I, Molnár GA, Degrell P, Wagner Z, Tamaskó M, Laczy B, Brasnyó P, Wagner L, Nagy J. Prevention and treatment of diabetic nephropathy. *Diabetes Res Clin Pract* 2005; 68 (suppl 1): 36-42.
375. Wolf G, Ziyadeh FN: Molecular mechanisms of diabetic renal hypertrophy. *Kidney Int* 1999; 56: 393– 405
376. Wolf G. New insights into the pathophysiology of diabetic nephropathy: from haemodynamics to molecular pathology. *Eur J Clin Invest* 2004; 34: 785-796.
377. Woolf AS, Fine LG. Do glomerular hemodynamic adaptations influence the progression of human renal disease? *Pediatr Nephrol* 1991; 5: 88-93.

378. World Health Organization. World Health Organization Department of Noncommunicable Disease Surveillance. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Report of a WHO consultation. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Geneva
379. Wustenberg PW, Dabels J. Pathogenicity of glomerular hyperfiltration, a question of glomerular tolerance. *Z Gesamte Inn Med* 1990; 45: 210-214.
380. Yamamoto T, Sato T, Hosoi M, Yoshioka K, Tanaka S, Tahara H, Nishizawa Y, Fujii S. Aldose reductase gene polymorphism is associated with progression of diabetic nephropathy in Japanese patients with type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab* 2003; 5: 51-57.
381. Yamamoto Y, Maeshima Y, Kitayama H, Kitamura S, Takazawa Y, Sugiyama H, Yamasaki Y, Makino H. Tumstatin peptide, an inhibitor of angiogenesis, prevents glomerular hypertrophy in the early stage of diabetic nephropathy. *Diabetes* 2004; 53: 1.831-1.840.
382. Yip JW, Jones SL, Wiseman MJ, Hill C, Viberti G. Glomerular hyperfiltration in the prediction of nephropathy in IDDM: a 10-year follow-up study. *Diabetes* 1996; 45: 1.729-1.733.
383. Zerbini G, Bonfanti R, Meschi F, Boggetti E, Paesano PL, Gianolli L, Querques M, Maestroni A, Calori G, Del Maschio A, Fazio F, Luzi L, Chiumello G. Persistent renal hypertrophy and faster decline of glomerular filtration rate precede the development of microalbuminuria in type 1 diabetes. *Diabetes* 2006; 55: 2.620-2.625.
384. Zhang L, Krzentowski G, Albert A, Lefébvret PJ. Factors predictive of nephropathy in DCCT type 1 diabetic patients with good or poor metabolic control. *Diabet Med.* 2003; 20: 580-585.
385. Zintzaras E, Stefanidis I. Association between the GLUT1 gene polymorphism and the risk of diabetic nephropathy: a meta-analysis. *J Hum Genet* 2005; 50: 84-91.
386. Zucchelli P, Zuccala A, Sturani A. Glomerular dysfunction in diabetic nephropathy. *Postgrad Med J* 1988; 64 (Suppl 3): 22-30.

## **IX. ANEXOS**

**Anexo 1.** Características demográficas, clínicas y parámetros metabólicos, de funcionalismo renal y del estrés oxidativo de los niños del grupo control.

<b>Caso</b>	<b>Sexo</b>	<b>Edad</b> (años)	<b>Peso</b> (kg)	<b>Talla</b> (cm)	<b>IMC</b> (kg/m <sup>2</sup> )	<b>HbA<sub>1c</sub></b> (%)	<b>Total-Co</b> (mg/dl)	<b>HDL-Co</b> (mg/dl)	<b>LDL-Co</b> (mg/dl)	<b>Tg</b> (mg/dl)	<b>SCr</b> (mg/dl)	<b>Ccr</b> (ml/min/1,73m <sup>2</sup> )	<b>MA</b> (µg/min/1,73m <sup>2</sup> )	<b>GPx</b> (U/gHb)	<b>GSH</b> (mmol/gHb)	<b>b- caroteno</b> (nmol/ml)	<b>a-tocoferol</b> (nmol/g Co+TG)	<b>MDA</b> (nmol/ml)	<b>Grupos carbonilo</b> (mg/gprot.)
1	H	12,2	31,8	140,5	16,1	5,4	170	59	92	93	0,7	113	3,47	119	1,99	0,67	1,43	22,90	1,52
2	M	13,5	54,1	159	21,4	4,8	123	66	32	41	0,8	124	3,47	181	1,92	1,07	2,46	20,70	0,97
3	H	12,4	47,4	157	19,2	4,5	152	68	75	46	0,7	129	3,47			0,96	2,01	26,66	1,39
4	H	16,0	64,4	171,5	21,9	5,1	144	73	63	41	1,0	123	3,47	52	1,99	0,90	1,88	29,48	0,91
5	H	13,3	48,2	154,0	20,3	4,5					0,8	112	3,47	80	1,162	4,37	1,61	24,78	1,27
6	H	5,8	17,5	97,2	18,5	4,7	169	68	86	77	0,5	101	4,20	92	1,46	1,25	1,91	14,43	0,97
7	M	11,4	48,0	150,0	21,3	4,7					0,7	103	5,31	140	1,99	1,27	1,12	13,17	1,45
8	M	9,7	40,2	150,8	17,7	4,6	145	45	86	65	0,7	122	3,60	56	1,90	1,01	1,58	28,86	0,97
9	M	6,5	22,0	112,0	17,5	4,8					0,5	133	6,30	41	1,88	1,01	1,55	34,50	1,11
10	M	14,2	48,0	156,7	19,5	4,5	171	69	84	85	0,7	118	0,07	140	2,55	0,92	2,42	33,25	1,22
11	H	12,4	38,8	145,0	18,5	4,9	150	58	81	62	0,7	121	0,04	37	0,67	0,67	1,43	32,31	1,18
12	H	13,8	68,5	166,3	24,8	4,7	156	35	110	56	0,8	110	5,90	48	2,00	0,84	1,56	23,78	1,03
13	H	8,1	25,2	122,0	16,9	4,6					0,6	108	6,42	113	1,89	3,52		24,15	1,17

**Anexo 2a.** Características demográficas y clínicas del grupo de niños y adolescentes DM 1.

<b>Caso</b>	<b>Sexo</b>	<b>Edad (años)</b>	<b>Peso (kg)</b>	<b>Talla (cm)</b>	<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	<b>PAS (mmHg)</b>	<b>PA D (mmHg)</b>	<b>Debut DM (años)</b>	<b>CAD en el debut</b>	<b>Evolución (meses)</b>	<b>Glicemias digitales (nº/día)</b>	<b>Insulina Fracciones/día</b>	<b>Insulina UI/kg/día</b>	<b>HbA1c año anterior (%)</b>
14	M	11,6	48,0	148,5	21,8	112	48	6,1	No	67,8	4	3	0,98	7,30
15	H	20,1	79,5	180,0	24,5	145	64	14,6	Sí	67,3	3	3	1,19	8,35
16	M	19,2	66,5	165,0	24,4	121	64	11,4	Sí	94,3	4	3	0,63	7,30
17	H	17,2	66,3	169,0	23,2	136	72	13,8	Sí	42,0	4	3	1,55	8,10
18	H	4,50	20,8	109,0	17,5	90	55	2,1	Sí	28,7	6	4	0,82	8,90
19	H	13,6	52,8	171,0	18,1	107	53	13,1	No	5,9	5	2	0,15	5,80
20	H	16,9	56,5	173,0	18,9	114	56	7,0	No	120,7	3	3	0,99	8,50
21	H	20,3	100	179,0	31,2	118	69	14,2	No	74,5	3	3	1,12	8,60
22	M	12,8	44,6	154,0	18,8	130	72	11,1	Sí	21,2	5	3	1,28	7,10
23	H	13,2	44,5	152,0	19,3	123	57	8,3	No	59,7	4	3	1,08	8,42
24	M	7,20	26,4	125,8	16,7	112	57	4,2	No	36,4	4	3	0,91	6,60
25	M	10,4	23,3	121,0	15,9	83	23	9,4	No	12,2	6	3	0,52	7,10
26	H	17,2	74,4	173,3	24,8	122	61	10,7	Sí	78,9	3	3	0,87	7,10
27	M	18,6	46,4	153,0	19,8	113	67	14,1	No	54,3	4	4	1,31	7,40
28	H	12,1	58,3	156,0	24,0	130	60	9,9	Sí	26,6	5	3	0,63	7,10
29	M	17,5	53,1	150,5	23,4	131	69	8,8	Sí	105,9	4	4	1,47	7,70
30	M	10,9	38,3	151,5	16,7	119	65	7,1	No	46,0	5	3	0,86	6,30
31	M	7,90	30,4	124,3	19,7	89	68	5,0	No	35,7	6	3	0,89	7,15
32	M	16,7	58,0	167,5	20,7	122	69	10,6	No	74,3	3	3	0,97	7,70
33	M	15,8	53,4	159,0	21,1	119	60	9,6	No	75,2	3	3	0,69	8,00
34	H	16,4	62,0	174,0	20,5	115	56	4,6	No	143,3	5	3	0,94	7,70
35	H	17,9	61,0	165,0	22,4	140	72	11,4	No	78,4	3	3	1,34	9,60
36	M	8,80	28,7	130,0	17,0	115	52	6,8	Sí	23,7	5	3	0,70	6,30
37	H	14,2	58,1	172,0	19,6	120	73	8,1	Sí	74,3	3	3	1,02	7,60
38	H	7,10	31,1	130,2	18,3	110	60	6,6	No	6,6	6	3	0,26	6,40
39	M	18,2	67,5	172,0	22,8	108	69	14,9	Sí	39,8	4	3	0,61	8,70
40	H	15,5	84,0	173,0	28,1	122	61	10,4	Sí	61,8	4	3	1,40	8,70
41	M	4,50	16,0	104,0	14,8	106	52	1,5	Sí	35,8	4	3	1,06	8,00
42	M	16,5	80,0	170,0	27,7	130	69	7,5	Sí	109,5	5	3	1,21	9,40



**Anexo 2b.** Características demográficas y clínicas del grupo de niños y adolescentes DM 1.

<b>Caso</b>	<b>HbA<sub>1c</sub></b> (%)	<b>Total-Co</b> (mg/dl)	<b>HDL-Co</b> (mg/dl)	<b>LDL-Co</b> (mg/dl)	<b>Tg</b> (mg/dl)	<b>SCr</b> (mg/dl)	<b>Ccr</b> (ml/min/1,73m <sup>2</sup> )	<b>MA</b> (µg/min/1,73m <sup>2</sup> )	<b>GPx</b> (U/gHb)	<b>GSH</b> (mmol/gHb)	<b>b- caroteno</b> (nmol/ml)	<b>a-tocoferol</b> (nmol/g Co+TG)	<b>MDA</b> (nmol/ml)	<b>Grupos carbonilo</b> (mg/gprot.)
14	7,0	167	71	81	75	0,7	115,32	8,33	118	3,36			21,96	2,01
15	8,1	113	47	56	52	0,9	168,17	3,47	116	0,10			22,58	1,50
16	7,6	136	63	64	44	0,9	130,84	5,56	61	1,04	0,83	1,91	23,53	1,54
17	7,7	135	59	65	53	1,1	159,28	9,72	70	0,33			19,76	2,03
18	8,8	141	72	62	35	0,7	164,29	16,12	74	1,60	0,57	1,71	19,13	2,56
19	5,9	128	51	70	35	0,8	138,19	15,00	70	2,36	0,33	1,94	19,13	2,97
20	8,6	144	46	84	69	0,9	161,71	3,47	70	2,81	0,29	0,77	14,74	2,58
21	8,1	156	38	104	72	1,0	149,59	3,47	99	2,70	0,86	1,15	24,15	0,95
22	7,9	137	44	75	90	0,8	125,8	10,63	163	0,35		0,12	21,33	1,31
23	8,5	135	67	60	39	0,8	158,25	13,47	147	0,34	0,80	1,41	45,48	0,99
24	6,8	161	53	100	38	0,6	121,37	3,47	93	0,21	0,50	2,09	34,82	2,23
25	7,4	123	57	54	60	0,6	138,99	3,47	201	0,54	0,28	1,07	36,39	1,39
26	7,1	174	51	109	68	0,9	106,58	11,81	91	2,53			38,58	1,33
27	7,5	104	48	47	47	0,7	167,66	16,25	131	2,17		0,54	47,36	1,83
28	7,1	158	65	83	48	0,6	137,95	6,25	36	2,47	1,61	1,99	51,44	1,14
29	7,2	235	71	149	76	0,9	155,54	3,47	201	2,73	1,03	1,63	54,58	1,55
30	7,1	150	72	67	53	0,7	130,70	5,56	79	2,25	1,04	1,66	43,60	1,38
31	7,2	193	82	95	79	0,6	130,17	3,47	70	1,62	1,46	1,80	46,11	1,14
32	7,4	210	73	128	47	1,0	167,92	6,81	67	1,01	1,75	1,41	42,35	1,61
33	7,9	183	76	94	64	0,9	165,04	4,72	65	3,39	1,32	1,45	41,72	1,39
34	7,2	149	57	78	69	0,9	151,08	8,47	89	0,40	1,08	1,55	38,90	1,32
35	9,0	218	45	151	108	1,0	216,32	289,51	96	2,37	1,03	0,89	51,13	1,22
36	6,1	147	66	71	50	0,8	118,40	3,47	143	1,36	1,51	1,73	37,33	0,96
37	7,4	171	68	91	60	0,7	168,05	69,33	119	1,88	0,84	1,39	43,60	1,24
38	6,5	159	58	90	54	0,6	130,71	3,47	94	1,66	1,85	1,93	19,13	1,07
39	8,5	188	58	120	50	0,9	161,72	12,47	40	2,03	1,29	1,42	25,72	1,09
40	8,7	120	62	24	170	0,8	173,20	18,47	67	2,02	0,56	2,34	44,85	0,71
41	8,1	183	70	96	84	0,7	123,78	6,25	58	1,53	1,29	1,01	28,86	1,38
42	6,9	143	73	62	41	0,9	157,68	6,94	91	0,78	0,80	2,02	33,56	1,27

**Anexo 3. HOJA DE RECOGIDA DE DATOS**

NOMBRE.....FN.....SEXO V / M

**ANTECEDENTES FAMILIARES:**

DMID

DMNID

OTROS

**ANTECEDENTES PERSONALES:**

ENDOCRINOPATIA

AUTOINMUNIDAD

OTROS

**ENFERMEDAD ACTUAL: DMID**

FECHA DE DEBUT CLINICO:

MANIFESTACIONES:

**NO CAD:** Glucemia.....

Tratamiento:

Insulina rápida inicial:

Tiempo de insulina rápida

Tiempo hasta régimen de NPH/rápida

Complicaciones (si hipoglucemia, la mínima)

**CAD:** Glucemia.....HCO<sub>3</sub>.....

Complicaciones: Neurológicas, metabólicas

Tratamiento:

Bolo inicial de insulina iv:.....

Tiempo de perfusión de insulina.....

Tiempo de insulina rápida.....

Tiempo hasta régimen NPH/rápida....

#### TIPIFICACION DE LA DM:

HLA:

Autoanticuerpos:

Poliendocrinopatía:

#### ***EVOLUCION***

✓ Luna de miel: duración:.....

✓ Tiempo hasta estabilización.....

(Dosis mantenida y constante de insulina)

✓ Parámetros clínicos:

○ Peso.....(Kg.)

○ Talla.....(cm)

○ Velocidad de crecimiento.....(cm/año)

○ TA (percentil).....

○ Desarrollo puberal (Tanner).....

○ Menarquia.....

✓ Parámetros metabólicos:

○ Sangre

✓ Creatinina/urea:

✓ Colesterol:

✓ Triglicéridos:

✓ HbA<sub>1c</sub>:

- Endocrino
  - ✓ TSH.....T<sub>4</sub>.....
- Renal
  - ✓ FG:
  - ✓ Microalbuminuria:
  - ✓ Proteinuria:

✓ Fondo de ojo:

✓ Velocidad de conducción:

### ***TRATAMIENTO***

INSULINA NPH.....UI/día

INSULINA Rápida.....UI/día