



DEPARTAMENTO DE MEDICINA  
Facultad de Medicina  
UNIVERSIDAD DE GRANADA

**UNIVERSIDAD DE GRANADA**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE MEDICINA**

**TESIS DOCTORAL**

**BETA-GLUCURONIDASA Y**  
**GLUCOSAMINOGLICANOS URINARIOS EN**  
**EL DIAGNÓSTICO DE LA NEFROPATÍA**  
**DIABÉTICA**

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Tomas Muñoz Casaubon', written over a horizontal line.

**TOMAS MUÑOZ CASAUBON**  
**GRANADA 1998**



DEPARTAMENTO DE MEDICINA

Facultad de Medicina

UNIVERSIDAD DE GRANADA

**FRANCISCO JOSE PÉREZ BLANCO. Profesor Titular de Patología Clínica Médica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada.**

**CERTIFICA:**

Que D. Tomás Muñoz Casaubón ha realizado en el Departamento de Investigaciones Médicas "Mora Lara" y bajo mi dirección la Tesis Doctoral titulada "*Beta-glucuronidasa y glucosaminoglicanos urinarios en el diagnóstico de la nefropatía diabética*", que ha concluido con todo aprovechamiento.

El que suscribe ha revisado el presente trabajo y lo considera apto para su aprobación por la Comisión correspondiente.

Granada, Septiembre 1998



DEPARTAMENTO DE MEDICINA

Facultad de Medicina

UNIVERSIDAD DE GRANADA

**ANTONIO RODRÍGUEZ CUARTERO. Profesor Titular de Patología Clínica Médica  
de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada.**

**CERTIFICA:**

Que D. Tomás Muñoz Casaubón ha realizado en el Departamento de Investigaciones Médicas "Mora Lara" y bajo mi dirección la Tesis Doctoral titulada "*Beta-glucuronidasa y glucosaminoglicanos urinarios en el diagnóstico de la nefropatía diabética*", que ha concluido con todo aprovechamiento.

El que suscribe ha revisado el presente trabajo y lo considera apto para su aprobación por la Comisión correspondiente.

Granada, Septiembre 1998



Universidad de Granada

DEPARTAMENTO DE ENFERMERIA

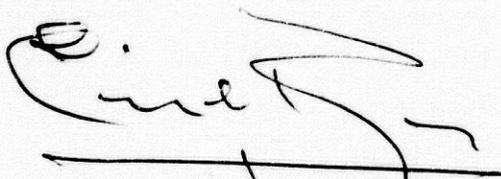
---

ENRIQUE RAYA ÁLVAREZ. Doctor en Medicina y Cirugía por la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada. Profesor Asociado de la Escuela Universitaria de Ciencias de la Salud de la Universidad de Granada.

CERTIFICA:

Que Tomás Muñoz Casaubón ha realizado en el Departamento de Investigaciones Médicas "Mora Lara" y bajo mi dirección la Tesis Doctoral titulada "*Beta-glucuronidasa y glucosaminoglicanos urinarios en el diagnóstico de la nefropatía diabética*", que ha concluido con todo aprovechamiento.

El que suscribe ha revisado el presente trabajo y lo considera apto para su aprobación por la Comisión correspondiente.



---

Granada, Septiembre 1998

# **AGRADECIMIENTOS**

La realización de este trabajo no hubiera sido posible sin la colaboración de un gran equipo de personas, que me facilitaron la elaboración del mismo.

En primer lugar quiero expresar mi gratitud al Prof. FJ. PÉREZ BLANCO, persona excepcional, médico e investigador incansable, siendo su experiencia, interés y dedicación una constante a lo largo de este estudio y que sin sus indicaciones y consejos no se habría podido llevar a cabo. Le agradezco sinceramente su inestimable ayuda y la confianza depositada en mi.

Al Prof. A. RODRÍGUEZ CUARTERO, le doy las gracias por su interés, por su inestimable colaboración y diligencia científica demostrada.

Al Dr. ENRIQUE RAYA ÁLVAREZ, mi querido amigo, gracias por su apoyo emocional, cooperación, y especial estímulo en los momentos más difíciles sobre todo en el inicio y que me ha ayudado a concluir este proyecto.

He de agradecer a todos los profesionales médicos y auxiliares del Laboratorio de Investigaciones Médicas "Mora Lara" que con su gran ayuda, han contribuido a la recogida y procesamiento de datos y muestras. Hago mención especial a mi compañero y amigo Dr. GERARDO PÉREZ CHICA y su mujer INMACULADA GARBÍN FUENTES que desde el primer momento se prestaron a colaborar conmigo con tanta ilusión y de forma totalmente desinteresada.

En general a todos mis amigos que de una manera o de otra han querido que saliera adelante este trabajo.

Un recuerdo muy especial hacia mi maestro en la especialidad médica que ejerzo, Dr. JUAN MORENTE CAMPOS que siempre con gran aprecio, simpatía y máximo rigor, ha deseado lo mejor para mí.

Y destacar, como no, a mi familia con mi madre al frente, por su cariño constante e infalible, sus sacrificios y aliento desde el inicio de mi carrera de Medicina. Por último, a mi mujer que ha sabido aguantar con paciente y abnegada resignación el transcurrir día a día de esta absorbente tarea y a mis hijos UNI, TOMÁS Y PEDRO, quienes son la ilusión de mi vida y que en sus cortas edades les he privado en numerosas ocasiones de mi compañía.

# PRESENTACION

# **PRESENTACION**

En el departamento de Investigaciones Médicas "Mora Lara" de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada, se están realizando estudios sobre "Enzimología urinaria" durante más de dos décadas. Al principio bajo la dirección de los profesores Mora Lara y Nuñez Carril, continuada posteriormente esta labor por los profesores Rodríguez Cuartero y Pérez Blanco.

Se siguen montando nuevas técnicas para el estudio de numerosas enzimas en las enfermedades sistémicas con afectación renal, como son la diabetes mellitus y la hipertensión arterial.

En la diabetes mellitus se han desarrollado trabajos en relación con enzimas urinarios tales como la calicreína, N-acetil- $\beta$ -glucosaminidasa o beta-glucuronidasa, así como otros marcadores de lesión renal (microalbuminuria y glucosaminoglicanos urinarios).

En el presente estudio, se relaciona un componente importante de la membrana basal glomerular, los glucosaminoglicanos, con uno de los enzimas encargados de su metabolización, la beta-glucuronidasa.

Trabajos previos que han sido la base para poder llegar a la situación actual son:

1. **Pérez Blanco FJ, Moreno G, Cantero J, Rodríguez Cuartero A.** Urinary excretion of glucosaminoglycans in patients with early diabetic nephropathy. *Nephron*. 1996; 73: 344-345.
2. **Pérez Blanco FJ, Manzanares L, Dominguez JR, Moreno G, Rodríguez Cuartero A.** Urinary kallikrein excretion in early diabetic nephropathy. *Clin. Nephrol.* 1997; 47: 64-65.
3. **Rodríguez Cuartero A, Barcelona Martín F.** Urinary  $\beta$ -glucuronidasa excretion in insulin-dependent diabetes mellitus: relation with diabetic nephropathy. *Clin. Nephrol.* 1997; 48: 135.

# **INTRODUCCION**

## CAPITULO 1

# NEFROPATÍA DIABÉTICA

### I) DEFINICION.

A finales del siglo XIX se pensaba que la diabetes se producía por la incapacidad del riñón para retener agua. Desde que lo escribió Areteo de Capadocia: "En la diabetes las partes blandas y los miembros se funden y salen a través de la orina. Los pacientes nunca dejan de orinar y el flujo es incesante".

La palabra diabetes deriva del griego y significa "sifón", una obvia referencia a la poliuria y a la polidipsia que son manifestaciones cardinales de este trastorno. Si bien los síntomas relacionados con el riñón fueron los primeros en ser reconocidos como manifestaciones de la diabetes, los efectos renales tardíos no se conocieron hasta 1936 cuando Kimmelstiel y Wilson<sup>1</sup> describieron formaciones medulares hialinas en los glomérulos procedentes de las autopsias de ocho pacientes diabéticos; a esta lesión se le denominó "glomeruloesclerosis nodular". Además estos investigadores también definieron el síndrome clínico de la insuficiencia renal y proteinuria intensa asociada a hipertensión sistémica. En el curso de los años posteriores surgieron varias descripciones de otras variedades de lesiones glomerulares y se clarificó enormemente el cuadro clínico y la magnitud del espectro de estas lesiones.

Bell<sup>2</sup> describe la glomeruloesclerosis difusa, diferenciándola claramente de la nodular y señala la gran importancia de las lesiones arteriolares en la patogenia de la nefropatía de los diabéticos.

El término "microangiopatía diabética" fue propuesto por Lumbaeck en 1954<sup>3</sup>, basándose en el hallazgo común de enfermedad de los pequeños vasos tanto en la retinopatía como en la nefropatía de los diabéticos.

La introducción de la biopsia renal percutánea y la disponibilidad del microscopio electrónico han permitido un mejor conocimiento de la enfermedad; se han descrito cambios primarios en la membrana basal de los capilares y su evolución hasta la oclusión glomerular. Muchos estudios han contribuido a una mejor comprensión de la enfermedad permitiendo un aceptable manejo clínico de los pacientes; sin embargo, a pesar de los grandes avances en algunas áreas, siguen quedando lagunas en las que el desacuerdo y la confusión persisten.

El síndrome clínico se caracteriza por proteinuria persistente, hipertensión arterial y deterioro progresivo de la función renal. El patrón histológico viene representado por la glomeruloesclerosis nodular, glomeruloesclerosis difusa y la hialinosis glomerular. Pero estos hechos no ocurren de forma precisa y en un momento dado en el curso de la diabetes, son más bien la consecuencia de una serie de eventos que de forma continuada se van produciendo en el glomérulo.

Actualmente no existen dudas respecto a la coincidencia entre el inicio de la diabetes y el comienzo de la nefropatía<sup>4</sup>. En los estadios iniciales se detectan alteraciones funcionales y estructurales sin repercusión clínica, posteriormente hay un periodo de transición en el que se van desarrollando las lesiones glomerulares, pudiendo aparecer

microalbuminuria ocasional que después se hace persistente, acompañándose en ocasiones de hipertensión arterial y por último en la fase más tardía se establece la oclusión glomerular y aparece proteinuria persistente con hipertensión, que conduce a la insuficiencia renal crónica terminal o a la muerte por enfermedad cardiovascular.

La nefropatía diabética es una complicación muy severa de la diabetes mellitus tipo I, tanto en su frecuencia como en sus consecuencias. En la diabetes mellitus tipo II su incidencia es menor, probablemente debida a la edad de los pacientes y a la mayor mortalidad por causas cardiovasculares que impiden en ocasiones el desarrollo de la nefropatía.

## II) ESTUDIO DE LA PREVALENCIA.

En la actualidad las alteraciones crónicas de la microcirculación renal son responsables de índices muy elevados de morbilidad y de mortalidad, particularmente en pacientes que desarrollan diabetes en la infancia o en la juventud. Se estima que hasta el 50% de estos pacientes desarrollará una insuficiencia renal después de transcurridos 10 a 30 años de enfermedad<sup>5,6,7,8</sup>.

La insuficiencia renal por nefropatía es causa principal de muerte en la diabetes<sup>9,10,11</sup>. El estudio Steno, en Dinamarca, demostró que después de 40 años de diabetes, sólo el 10% de los que desarrollan nefropatía vivían, frente al 70% del grupo sin nefropatía<sup>7</sup>.

Sin embargo la enfermedad renal y la insuficiencia renal también se asocian con la diabetes que aparece en el adulto si bien, como hemos señalado anteriormente, en este tipo de diabetes existen otras complicaciones sistémicas que predominan sobre la enfermedad renal como causas de muerte<sup>13,14</sup>. La insuficiencia renal contribuye significativamente a los índices de mortalidad y morbilidad en una proporción amplia de los pacientes diabéticos.

La incidencia acumulativa de la nefropatía diabética a los 40 años de evolución en la diabetes mellitus tipo I es de 45 al 50%, con un pico de máxima incidencia a los 15 años.

En España, por los escasos estudios epidemiológicos disponibles se puede calcular que hay, como mínimo, un millón de diabéticos de los cuales 150.000 padecen diabetes tipo I<sup>15,16</sup>. La mitad de todos ellos presentará algún signo de afección renal a lo largo de su evolución<sup>12,17</sup> y alrededor de 50.000 enfermos con diabetes tipo I y de 20.000 con diabetes tipo II fallecerán a consecuencia de la nefropatía<sup>5,18,19</sup>.

Un reciente estudio de Esmatjes y cols<sup>20</sup> realizado en Cataluña en diabéticos tipo II, indica que la prevalencia de la afectación renal aumentó con la evolución de la enfermedad metabólica, siendo del 8,1% en los pacientes con menos de 9 años de evolución, del 24,7% en los que llevaban entre 10 y 19 años diagnosticados de diabetes y del 44,7% en los que eran diabéticos desde hacia más de 20 años.

Se ha comprobado que existe una relación estricta entre la duración de la diabetes mellitus tipo I y la presencia de nefropatía diabética<sup>21</sup>. El riesgo se inicia a los 5 años del comienzo de la enfermedad, aumenta un 2,5% anual hasta la segunda década y a partir de entonces disminuye un 1%<sup>21,22,23,24</sup>. Por tanto no sigue el patrón habitual de otras complicaciones crónicas (retinopatía)<sup>25</sup>. Esta disminución de riesgo a partir de la segunda década de la vida, sugiere que sólo un grupo de diabéticos es susceptible de lesión renal.

La nefropatía diabética, se asocia con mayor frecuencia a complicaciones tardías<sup>26</sup> y mayor mortalidad por causas extrarrenales<sup>27</sup>.

El numero de pacientes que ingresa en un programa de tratamiento sustitutivo (hemodiálisis o diálisis peritoneal), se ha incrementado en los últimos años. En EEUU la nefropatía diabética es la primera causa de insuficiencia renal crónica y de los pacientes que ingresan anualmente en un programa de diálisis del 25 al 28% son diabéticos<sup>14,28,29</sup>.

Según datos del último registro USRD<sup>30</sup> en 1996, unos 19.000 pacientes nuevos al año requieren tratamiento de insuficiencia renal terminal (35,2% del total) y los costes médicos directos fueron superiores a 4 billones de dólares al año.

Algunos autores como Perneger y cols<sup>31</sup> indican que estas cifras son aún mayores tomando como referencia un estudio poblacional de casos y controles. Estiman en un 42% los pacientes diabéticos con insuficiencia renal terminal incluidos en el año 1993 en tratamientos sustitutivos renales. De estos la mitad corresponden a diabetes mellitus tipo I y la otra a diabetes mellitus tipo II.

En España la nefropatía diabética es la tercera causa de insuficiencia renal crónica<sup>32,33</sup>. El 12% de los pacientes que iniciaron sustitución renal entre 1986-87 eran diabéticos<sup>34</sup>.

Los registros llevados a cabo por la Sociedad Española de Nefrología en los últimos años están escasamente actualizados, por lo que los datos que existen actualmente son solo de referencia y obtenidos de los registros europeos donde el porcentaje de respuesta de los centros españoles en los formularios no alcanza el 70%, lo que hace que estos datos no sean totalmente fiables<sup>35</sup>.

En relación con el trasplante renal, el 20% en EEUU y el 11% en Europa<sup>36</sup> fueron realizados en individuos diabéticos.

Respecto a la prevalencia de nefropatía diabética en la diabetes mellitus tipo II se dispone de menos datos epidemiológicos. Parece mas frecuente en determinados grupos étnicos (japoneses, pimas) en los que alcanza una prevalencia del 50% al cabo de 20 años de diabetes<sup>37,38,39</sup>.

Existen numerosos estudios sobre la historia natural de la nefropatía diabética en indios pima, comprobándose que es la causa mas importante de morbilidad y de mortalidad en esta raza<sup>40</sup> y que la progresión de la enfermedad no va a depender de la edad, sexo o presión arterial y sí del tiempo de duración de la proteinuria<sup>41</sup>.

También se ha comprobado mayor incidencia de insuficiencia renal terminal en el curso de la nefropatía diabética en determinados grupos étnicos. Cowie<sup>42</sup> observa que la proporción de enfermos terminales renales debido a la diabetes es mayor en los nativos americanos e hispánicos, así como en sujetos de raza negra.

En un estudio realizado en Italia por Garancini y cols<sup>43</sup> se demuestra que la microalbuminuria estaba presente en el 20,9% de los pacientes diabéticos a los 5 años de su enfermedad, alcanzando un nivel máximo (25,8%) a los 10 años. Sin embargo, las manifestaciones clínicas de la nefropatía en los diabéticos tipo II es mucho menor (no supera el 10%), siendo responsable directa de su muerte en el 2-9%<sup>18</sup>. SCHMEHEL<sup>44</sup> encuentra nefropatía en el 22% de los pacientes con diabetes mellitus tipo II.

En la diabetes mellitus tipo II la presencia de proteinuria o fracaso renal, puede objetivarse en el momento del diagnóstico de la diabetes. La incidencia acumulativa de proteinuria es muy similar a la hallada en la diabetes mellitus tipo I con el paso del tiempo, a diferencia del fracaso renal que alcanza en la diabetes tipo II, a los 31 años de evolución, una tasa inferior al 10%<sup>45</sup>. A pesar de esto, es mayor el número de pacientes

con diabetes tipo II sometidos a programas de diálisis o trasplante renal debido, como es lógico, a su mayor prevalencia<sup>46</sup>.

## BIBLIOGRAFIA.

1. **Kimmelsteil P, Wilson C.** Intercapillary lesions in glomeruli of kidney. *Am. J. Pathol.* 1936;12:83- 98.
2. **Bell ET.** Renal vascular disease in diabetes mellitus. *Diabetes.* 1953; 2: 376-389.
3. **Poulsen JE.** Features to the history of diabetology. Copenhagen; Muskgaard. 1982; 11-17.
4. **Mogensen CE, Schmitz O.** The diabetic kidney from hyperfiltration and microalbuminuria failure. *Med. Clin. North. Am.* 1988; 1465-1492.
5. **Deckert T, Poulsen JE, Larsen M.** Prognosis of diabetics with diabetes onset before the age on thirty-one. I. Survival, causes of death and complications. *Diabetologia.* 1978; 14: 363-370.
6. **Estmacher PL, Root HF, Marble A.** Longevity of diabetic patients in recent years. *Diabetes.* 1964; 13: 373-377.
7. **Paz-Guavara AT, White P.** Juvenile diabetes mellitus after forty-years. *Diabetes.* 1975; 24: 171-176.
8. **Viberti GC, Yip-Messent J, Morocutti A.** Diabetic nephropathy. Future avenue. *Diabetes Care.* 1992. 15:1216-25.
9. **Borch-Johnsen K, Andersen AR, Christiansen JS, et al.** The effect of proteinuria on relative mortality in type I diabetes mellitus. *Diabetologia* 1985; 28: 590-596.
10. **Knowles HCJr.** Magnitude of the renal failure problem in diabetic patients. *Kidney Int.* 1974; 6: 2-7.
11. **Paterson AD, Peacock I, Morgan AG et al.** Causes of death in diabetic clinic population. *Lancet.* 1987; 1: 1313-1316.
12. **Andersen AR, Christiansen JS, Andersen JK et al.** Diabetic nephropathy in Type I (insulin dependent) diabetes. An epidemiological study. *Diabetologia.* 1983; 25: 496-501.
13. **Hasslacher C, Ritz E, Wahl P et al.** Similar risks of nephropathy in patients with type I or type II diabetes mellitus. *Nephrol. Dial. Trasplant.* 1989; 4: 859-863.
14. **Narins BE, Narins RG.** Clinical features and healthcare. Cost of diabetic nephropathy. *Diabetes Care.* 1988; 11: 833-839.
15. **Figuerola D.** ¿ Que es la diabetes? En : Figuerola D, de. *Diabetes Mellitus. Guía para su conocimiento y control.* Barcelona, Salvat Editores, S.A. 1985; 1-27.
16. **Pallardo Sánchez LF, Zurro Hernández J.** Epidemiología de la diabetes. En: Cerdán Vallejo A, Jara Albarrán A, Rodríguez Miñón JL, Pallardo Sánchez LF, *Manual del Diabético: Madrid. Ediciones CEA S.A.* 1985; 29-37.
17. **Fabre J, Balant LP, Dayer PG et al.** The kidney in maturity onset diabetes mellitus: a clinical study of 510 patients. *Kidney Int.* 1982; 21: 730-738.
18. **Panzram G.** Mortality and survival in type I (non-insuline-dependent) diabetes mellitus. *Diabetología.* 1987; 30: 123-131.
19. **Teruel JL.** Nefropatía diabética. *Med. Clin.* 1988; 90: 67-72.
20. **Esmatjes E, Castell C, Goday A, et al.** Prevalencia de nefropatía en la diabetes mellitus tipo I. *Med. Clin.* 1998; 110: 6-10.

21. **Laffel LMB, Krolewki AS.** Epidemiology and clinical impact of diabetes late complications in IDDM. En: Mogensen CE, Standl E, eds. Diabetes forum series: prevention and treatment of diabetic late complications. Berlin-New York: Walter de Gruyter. 1989; 2: 13-27.
22. **Borch-Johnsen K, Nissen H, Henriksen E et al.** The natural history of insulin-dependent diabetes mellitus in Denmark. I. Long term survival with and without late diabetic complications. *Diabetic Med.* 1987; 4: 201-207.
23. **Kofoed-Enevoldsen A, Borch-Johnsen K, Kreiner S et al.** Declining incidence of persistent proteinuria in type I (insulin dependent) diabetic patients in Denmark. *Diabetes.* 1987; 36: 205-209.
24. **Krolewski AS, Warram JH, Rand LI et al.** Epidemiologic approach to the etiology of type I diabetes mellitus and its complications. *N. Engl. J. Med.* 1987; 317: 1390-1392.
25. **Keen H, Jarret J.** Complications of diabetes. London Edward Arnold. 1975; 127-129.
26. **Monnier VM, Viswanath V, Frank KE et al.** Relation between complications of type I diabetes mellitus and collagen linked fluorescence. *N. Eng. J. Med.* 1986; 314: 403-408.
27. **Borch-Johnsen K, Kreiner S.** Proteinuria value as predictor of cardiovascular mortality in insulin-dependent diabetes mellitus. *Br. Med. J.* 1987; 294: 1561-1564.
28. **Mac Crar Y RF, Pitts TO, Puschett JB.** Diabetic nephropathy: natural course, survivorship and therapy. *Am. J. Nephrol.* 1981; 1: 206-209.
29. **Reddo AS, Camerini-Davalos RA.** Diabetic nephropathy. An update. *Arch. Int. Med.* 1990; 150: 34-43.
30. **The National Institute of Health.** The National Institute of Diabetic and Digestive and Kidney Diseases. Division of Kidney, Urologic and Hematologic Diseases. Bethesda M.D. Unites States Renal Data System 1996. Annual Data Report 1996.
31. **Perneger TV, Brancati FL, Whelton PK, Klag JK.** End stage renal disease attributable to diabetes mellitus. *Ann. Intern. Med.* 1994; 121: 912-918.
32. **Goday A, Serrano Ríos M.** Epidemiología de la diabetes mellitus en España. Revisión crítica y nuevas perspectivas. *Med. Clin.* 1994; 102: 306-315.
33. **Vallés M, García M.** Informe anual del registro de pacientes en diálisis y trasplante en España (1085). *Nefrología.* 1987; 2 (suppl. 2): 15-28.
34. **Vallés M, García M.** Informe anual del registro de pacientes en diálisis y trasplante en España. *Nefrología.* 1989; 9 (suppl. 1) : 1-6.
35. **Rodríguez Pérez J, Pérez Borges P.** Nefropatía diabética. *Med. Clin.* 1998; 110: 16-18.
36. **Goetz FC, Elick B, Fryd D et al.** Renal transplantation in diabetes. *Clin. Endocrinol. Metab.* 1986; 15: 807-821.
37. **Arije A, Akinsola W, Lapidó G.** Renal function in adult nigerian diabetics. *Trp. Georg. Med.* 1988; 40: 334-337.
38. **Ballard D, Hunphernb L, Melton LF et al.** Epidemiology of persistent proteinuria en type II diabetes mellitus. Population-based study Rochester Minnesota. *Diabetes.* 1988; 37: 405-412.
39. **Chung K, Kumar R, Sakhuja V et al.** Nephropathy on type II diabetes mellitus in third world countries. *Int. J. Artif. Organs.* 1989; 12: 299-302.

40. Nelson RG, Knowler WC, Pttit DJ et al. Diabetic kidney disease in Pima Indians. *Diabetes Care*. 1993; 16: 335-341.
41. Nelson RG, Knowler WC, Mc Cance DR et al. Determinants of end-stage renal disease in Pima Indians with type II (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and proteinuria. *Diabetologia*. 1993; 36: 1087-1093.
42. Cowie CC. Diabetic renal disease: racial and ethnic differences from an epidemiologic perspective. *Trasplant Proc*. 1993; 25: 2426-2430.
43. Garancini P, Gallus G, Calori G et al. Microalbuminuria and the associated risk factors in a representative sample of italian type II diabetics. *J. Diab. Complic*. 1988; 2: 12-15.
44. Schmechel H, Heinrich U. Retinopathy and nephropathy in 772 insulin-treated diabetic patients in relation to the type of diabetes. *Diabete. Metab*. 1993; 19: 138-142.
45. Klein R. Diabetes mellitus: Late complications oculopathy. En: De Groot LF . *Endocrinology Philadelphia*. W.B. Saunders Company. 1995: 1522-1535.
46. Friedman EA. Renal syndromes in diabetes. *Endocrinal. Metab. Clin. North. America*. 1996; 25: 293.324.

## CAPITULO 2

# ETIOPATOGENIA DE LA NEFROPATÍA EN LA DIABETES MELLITUS.

Se han descrito diversos mecanismos potencialmente implicados en la etiopatogenia de la nefropatía diabética<sup>1,2</sup>, siendo difícil de aceptar que un único factor pueda ser el responsable de su aparición. Por tanto parece razonable postular que la etiopatogenia de la nefropatía es plurifactorial, al igual que sucede en el resto de las complicaciones de la diabetes.

La mayor predisposición a padecer microangiopatía está en relación con la duración de la enfermedad y con el control metabólico<sup>3</sup>, aunque se pueden asociar otros mecanismos como son las anomalías en la microcirculación, en la hemostasia o en la susceptibilidad genética<sup>4</sup>.

En la patogenia de la nefropatía diabética, por tanto, se han descrito una serie de factores involucrados entre los que podemos agrupar:

- 1) Factores genéticos.
- 2) Factores hemodinámicos.
- 3) Factores bioquímicos.
- 4) Factores hemorreológicos y hemostáticos.
- 5) Factores endoteliales.

### 1. FACTORES GENÉTICOS.

Se ha sugerido que la aparición de la nefropatía diabética podría estar relacionada con una determinada base genética. Esta se fundamenta, en primer lugar, en el hecho de que es muy raro el desarrollo de una nefropatía diabética en pacientes con evolución de la diabetes superior a los 30 años<sup>5</sup>. Viberti<sup>6</sup> demostró que los padres de niños diabéticos con proteinuria, tenían tensiones arteriales superiores a las de los padres de niños diabéticos sin proteinuria. En los pacientes diabéticos con proteinuria o microalbuminuria se ha demostrado una mayor actividad de la *bomba de transporte Sodio-Litio* (marcador genético asociado al riesgo de desarrollar hipertensión arterial), superior a los pacientes normoalbuminúricos<sup>7,8</sup>.

El contratransporte sodio-litio es una forma de funcionamiento de transporte acoplado sodio-hidrógeno. Este sistema es fundamental en el crecimiento y replicación celular, así como la reabsorción renal de sodio y bicarbonato. Viberti<sup>6</sup> propone que cuando la diabetes afecta a un sujeto con hiperactividad heredada del transporte acoplado sodio-hidrógeno aumenta considerablemente el riesgo de nefropatía diabética.

La actividad del sistema de contratransporte sodio-litio ó sodio-hidrógeno como consecuencia de la hipertrofia glomerular, un aumento de la resorción tubular renal de sodio o hiperplasia vascular endotelial, además de la disminución de la actividad de la bomba calcio-ATPasa, presencia de polimorfismos del gen receptor de la insulina o del

gen del enzima convertidor de la angiotensina, son los factores genéticos que se cree mas involucrados<sup>9,10,11</sup>.

El riesgo de padecer esta complicación de la diabetes mellitus tipo I se asocia a la predisposición genética de hipertensión arterial, de forma que esta situación aumenta la susceptibilidad para la nefropatía<sup>12,13</sup>. Por tanto, la hipertensión arterial no es consecuencia del fallo renal, sino que puede ser un factor importante en su desarrollo<sup>14</sup>.

Se ha comprobado que en los pacientes que tienen a uno de sus padres hipertensos, el riesgo de nefropatía se triplica. También se ha observado una mayor incidencia de hipertensión en los padres de pacientes diabéticos tipo I con proteinuria<sup>15</sup>.

Numerosos autores han encontrado mayor incidencia de nefropatía diabética en pacientes diabéticos de diferentes razas, pero siempre en relación con la edad y tiempo de evolución de la enfermedad<sup>5, 16-20</sup>.

Recientemente se viene hablando de la predisposición genética a padecer nefropatía, como consecuencia de un alteración hemodinámica renal. Weatherall<sup>21</sup> describe un serie de halotipos en relación con la regulación de la hemodinámica renal. Khoury<sup>22</sup> habla de una serie de marcadores genéticos en relación con el enzima convertidor de la angiotensina I. Doria<sup>23</sup> encuentra una asociación entre las diferentes secuencias del locus del enzima convertidor de la angiotensina I y las complicaciones renales en 151 pacientes diabéticos tipo I. Se ha descrito un marcador, el genotipo II del gen del enzima convertidor de la angiotensina, que reduce el riesgo de nefropatía<sup>24,25</sup>, pero no es así con otras complicaciones vasculares como la retinopatía.

Por otro lado, en algunos estudios se ha insinuado una mayor incidencia de la nefropatía en pacientes diabéticos con determinados antígenos de histocompatibilidad: HLA-B2<sup>26</sup>, HLA-DR4<sup>27</sup>, HLA-B8 y B15<sup>28</sup>.

Un hecho incuestionable a favor de la teoría genética es que la nefropatía diabética sólo afecta al 30-35% de los pacientes diabéticos tipo I. Pero ¿qué ocurre en el restante 70%?. ¿Qué es lo que induce o protege contra el daño renal?. El hecho debe residir en una susceptibilidad genética frente a algunos aspectos del síndrome diabético.

## 2. FACTORES HEMODINÁMICOS.

Los datos acumulados de estudios experimentales apoyan la hipótesis de que las alteraciones hemodinámicas que se observan precozmente, tanto en la diabetes clínica como experimental, pueden estar implicados en el desarrollo y progresión de la nefropatía diabética.

Hoy día está perfectamente demostrado que desde el mismo inicio de la diabetes, una buena parte de los pacientes presentan evidentes alteraciones en la hemodinámica renal, caracterizados fundamentalmente por un aumento del filtrado glomerular<sup>29-31</sup> y del flujo plasmático renal<sup>32,33</sup>. Esta hiperfiltración glomerular está relacionada con el grado de control metabólico, se corrige al normalizar estrictamente la glucemia<sup>34-36</sup> y generalmente se acompaña de hipertrofia renal<sup>37,38</sup>.

Son muchos los factores que en mayor o menor grado se han sugerido que podían estar relacionados con estas alternativas hemodinámicas.

## 2.1 Hiperglucemia

Estudios experimentales y clínicos, prospectivos y retrospectivos, han demostrado que elevación de los niveles de glucosa es el factor primordial en la génesis de la nefropatía.

Algunos autores como Kroiewski<sup>39</sup> defienden como cifras críticas valores de HbA1c superiores al 8.1%.

El aumento de la glucemia plasmática, de niveles normales hasta 12-13 nmol/l, incrementa en un 5-13% el filtrado glomerular y este fenómeno es mas acusado en pacientes con hiperfiltración basal<sup>40,41</sup>. Por otro lado, la reducción de la glucemia mediante la infusión de insulina reduce el flujo glomerular<sup>42-44</sup>.

El mecanismo por el que la hiperglucemia podría afectar el flujo renal es desconocido. Se ha sugerido que podría ser modulando la síntesis renal de prostaglandinas, aumentando la reabsorción de sodio y agua a nivel del túbulo distal o provocando alteraciones en el "Feed-back" túbulo-glomerular<sup>45-47</sup>.

Otra posible causa podría ser mediante un incremento en la producción de cuerpos cetónicos, ya que recientemente se ha descrito que la infusión de estos comporta una elevación del filtrado glomerular<sup>44</sup>.

Son mecanismos potencialmente lesivos de la hiperglucemia además de la acción tóxica de la glucosa sobre el glomérulo, alterando la replicación celular y aumentando el crecimiento renal<sup>48</sup>. La activación de la proteína-kinasa C aumenta la permeabilidad capilar y la síntesis de la matriz mesangial<sup>49</sup>. El aumento en la producción de citoquinas y TGF-beta provoca hipertrofia mesangial y la glicación no enzimática de proteínas ocasiona engrosamiento y alteración de la membrana basal, entrecruzamiento de las moléculas de colágeno y expansión mesangial<sup>50</sup>.

## 2.2 Hormona del crecimiento y glucagón.

Ambas hormonas administradas en grandes cantidades producen, tanto en el individuo normal como en el diabético, un discreto aumento de la filtración glomerular<sup>51,52</sup>. No obstante, no se encontraron diferencias en sus niveles al comparar diabéticos hiperfiltrantes con diabéticos normofiltrantes<sup>53</sup>.

## 2.3 Sistemas vasoactivos renales.

La función desempeñada por los factores hemodinámicos en el inicio y la progresión de la nefropatía diabética ha sido estudiada de forma minuciosa durante muchos años<sup>54</sup>. Desde el punto de vista experimental la diabetes se ha asociado a vasodilatación de la arteriola glomerular aferente sin dilatación correspondiente de la arteriola eferente, proceso que origina hiperfiltración e hipertensión intraglomerular<sup>55</sup>. Se cree que este último factor puede contribuir de forma significativa al desarrollo de una glomerulosclerosis progresiva acompañado de una hipertrofia glomerular<sup>56</sup>. En este mecanismo juegan un importante papel los sistemas vasoactivos renales.

La hemodinámica renal depende del equilibrio entre los sistemas vasoactivos existentes. En animales de experimentación se ha demostrado que existe una hiperproducción de prostaglandinas renales<sup>57,58</sup> y una inhibición del sistema renina-angiotensina-aldosterona<sup>59,60</sup>, habiéndose sugerido en algunos estudios en humanos que

podría existir un desequilibrio entre los sistemas vasoconstrictores y vasodilatadores con predominio de estos últimos<sup>27,61,62</sup>. Esta hipótesis sería coherente con la disminución de la resistencia arteriolar aferente hallada en ratas diabéticas<sup>63</sup>.

Otros factores que podrían contribuir a la vasodilatación intrarrenal de los pacientes diabéticos y de esta manera favorecer la hiperfiltración glomerular serían una posible disminución en el número de receptores de la angiotensina II<sup>64</sup> y una menor sensibilidad vascular a la angiotensina II y a las catecolaminas endógenas<sup>65</sup>.

También se ha comprobado como en los pacientes diabéticos hay un descenso en la secreción renal de algunos importantes enzimas vasoactivos (vasodilatadores), como los del sistema caliceína-cinina<sup>66</sup>, favoreciendo el deterioro de la función renal<sup>67</sup>.

Ya habían diagnosticado Adetuyibi<sup>68</sup> y Margolius<sup>69</sup> que la caliceína urinaria desciende en la hipertensión arterial. En la nefropatía diabética incipiente la caliceína renal incluso asciende, aunque posteriormente se normaliza y disminuye su secreción en correlación lineal con el aclaramiento de creatinina<sup>70</sup> como consecuencia de la lesión en la nefrona distal (lugar de síntesis).

#### 2.4 Factor natriurético atrial.

En base al aumento del líquido extracelular que tienen los pacientes diabéticos<sup>71</sup>, se ha postulado que podría existir en ellos un aumento en la concentración plasmática de factor natriurético atrial y esto contribuirían a la hiperfiltración existente<sup>72</sup>. Aunque algún estudio experimental en ratas diabéticas, parece apoyar esta hipótesis<sup>73,74</sup>, en humanos no se han confirmado estos hechos<sup>75</sup>.

Jungmann<sup>76</sup> estudia durante un año los niveles plasmáticos de péptido atrial en 19 pacientes diabéticos tipo I con nefropatía y los compara con otros parámetros de función renal como el aclaramiento de creatinina, alfa-1-microglobulina y presión arterial, no encontrando correlación con ninguno de ellos.

Parece ser que en los pacientes diabéticos el papel del péptido natriurético no es relevante, frente a otros sistemas vasoactivos renales como demostraron Persson y cols<sup>77</sup> y posteriormente Kircheheim<sup>78</sup>.

En el inicio y desarrollo de la nefropatía diabética lo más importante es la hipertensión arterial capilar glomerular. Zat y Brenner<sup>62</sup> comprueban que la nefropatía diabética puede ser prevenida y atenuada con medidas que normalicen la presión glomerular, como la dieta hipoproteica o con inhibidores del enzima de conversión de la angotensina (ECA).

Brenner<sup>79</sup> indica que la hiperfiltración glomerular podría ser la resultante de alteraciones en: flujo plasmático renal, flujo plasmático glomerular, presión coloidosmótica en los capilares glomerulares, gradiente de presión hidrostática transglomerular y coeficiente de ultrafiltración hidrostática eficaz. Por tanto, la hiperfiltración glomerular y la hipertensión capilar glomerular son los factores hemodinámicos mas importantes implicados en la patogenia de la nefropatía diabética, aunque se desconoce por qué mecanismo se lesiona el glomérulo.

### 3. FACTORES BIOQUÍMICOS.

La hiperglucemia crónica condiciona la glicación de una serie de proteínas, entre las que se encuentran los componentes de la membrana basal glomerular. En este sentido esta bien demostrada a este nivel la alteración de la síntesis y metabolismo del colágeno<sup>80,81</sup>, así como una disminución en la concentración normal de ácido siálico y sulfato de heparán<sup>47,82,83</sup>. El resultado de todo ello será, no sólo un cambio estructural de la membrana basal glomerular, sino una disminución en su funcionalidad ya que al disminuir su carga eléctrica negativa se facilitará la filtración de moléculas aniónicas como la albúmina, hecho que contribuirá a la aparición de la proteinuria<sup>84</sup>.

Por otra parte, se ha sugerido<sup>85</sup> que el colágeno glicado tendrá una especial afinidad para unirse a macromoléculas como la albúmina y la Ig G, pudiendo de esta manera actuar como antígeno o anticuerpo en la formación de inmunocomplejos que contribuirán a la lesión de la pared vascular.

La evidencia de una relación causal entre los trastornos metabólicos producidos por la hiperglucemia y el déficit de insulina con el desarrollo de la nefropatía diabética se pone de manifiesto por una serie de hechos que vamos a comentar:

A) En primer lugar es evidente que al principio de la diabetes la membrana basal de los capilares es normal y se precisa al menos de dos años para que se inicie el engrosamiento<sup>86</sup>.

B) Existe una correlación significativa entre el desarrollo de nefropatía diabética y la duración de la diabetes<sup>87-89</sup>.

C) Hay un efecto beneficioso del control glucémico sobre la hiperfiltración e hipertrofia glomerulares, así como sobre la microalbuminuria<sup>35,90</sup>.

D) Se produce nefropatía en diabetes secundarias<sup>91</sup> y experimentales<sup>92,93</sup>.

E) Se produce regresión de las lesiones glomerulares con el trasplante de páncreas, tanto en modelos animales<sup>94,95</sup> como en humanos<sup>96</sup>.

F) Desarrollo de nefropatía diabética al trasplantar riñones de donantes normales a receptores diabéticos en animales de experimentación<sup>97</sup> y en seres humanos<sup>98,99</sup>.

G) Se encuentra reversibilidad de las lesiones típicas de nefropatía diabética al trasplantar riñones de diabéticos en receptores no diabéticos, tanto en animales<sup>97</sup> como en seres humanos<sup>98</sup>.

Las pruebas realizadas en animales apoyan firmemente la teoría metabólica al comprobarse que las alteraciones funcionales y estructurales de la nefropatía diabética en sus fases iniciales dependen de la hiperglucemia u otros trastornos metabólicos acompañantes.

Los estudios controlados realizados en seres humanos para establecer la relación entre control metabólico y el desarrollo de nefropatía diabética no son tan persuasivos. En todos ellos se ha comprobado una disminución de la excreción urinaria de albúmina mediante el tratamiento insulínico intensivo (bombas de infusión), frente al tratamiento convencional<sup>99,100</sup>.

En el estudio de Steno<sup>89</sup> se apreció una disminución del filtrado glomerular renal después de dos años de tratamiento intensivo.

Los resultados publicados por el Grupo de Investigación del Control de la Diabetes y sus complicaciones (DCCT) a lo largo de los últimos años son más bien críticos<sup>101-104</sup>.

#### 4. FACTORES HEMORREOLÓGICOS Y HEMOSTÁTICOS.

En los pacientes con diabetes mellitus se han descrito alteraciones hemorreológicas<sup>105,106</sup> así como alteraciones funcionales de las plaquetas<sup>107,108</sup> que condicionan un cierto estado de hiperagregación plaquetaria. Se desconoce cual puede ser la importancia de este hecho en la etiopatogenia de la microangiopatía diabética en general y en la nefropatía en particular, pero lo cierto es que algunos autores han demostrado que el uso de fármacos inhibidores de la agregación plaquetaria disminuye el grado de proteinuria<sup>109-111</sup>.

Se ha comprobado en pacientes diabéticos que puede estar incrementado el factor VIII de la coagulación<sup>112</sup> y el activador del plasminógeno<sup>113</sup>, sobre todo en pacientes que desarrollan una microangiopatía.

#### 5. FACTORES ENDOTELIALES.

En los últimos años se ha conocido la importancia del endotelio vascular en la regulación autocrina, paracrina y endocrina. Puede afirmarse que la fisiología y fisiopatología del sistema vascular es en la actualidad incomprensible, si no se considera esta porción luminal de la capa íntima de los vasos. A la luz de los hallazgos sobre el papel que el endotelio desempeña en la regulación del sistema vascular se ha postulado recientemente la posibilidad de que esta monocapa de la pared del vaso intervenga de manera sustancial en el desarrollo de la hipertensión arterial en pacientes diabéticos.

A partir de la primera publicación de Fortes y cols en 1983<sup>26</sup> en la que se comunicaba la existencia de alteraciones en la respuesta vasodilatadora endotelio-dependiente en vasos procedentes de animales diabéticos, son múltiples los estudios que han confirmado la presencia de estas alteraciones en la diabetes.

Los datos que se disponen en la actualidad son no obstante contradictorios, ya que existen algunos estudios en los que no se ha observado alteración en las respuestas vasomotoras endotelio-dependientes<sup>114,115</sup>.

El endotelio sintetiza una gran cantidad de sustancias a través de las cuales regula, desde el tono vascular a los fenómenos de agregabilidad y adhesividad plaquetaria<sup>116</sup>, pasando por la actividad simpática perivascular<sup>117</sup>, la recaptación por la terminación presináptica de aminas biógenas<sup>118</sup> y la proliferación e hipertrofia del músculo liso subyacente<sup>116</sup>.

Desde el punto de vista vasomotor, el endotelio libera una serie de sustancias que están involucradas en las alteraciones vasculares de la diabetes; unas actúan como factores relajantes y otras como factores contráctiles:

a) Factores relajantes:

- Disminución del óxido nítrico basal.
- Disminución del óxido nítrico estimulado.
- Disminución de la prostaciclina.

b) Factores contráctiles:

- Aumento del tromboxano.
- ¿Aumento de endotelina?.

### 5.1 Factores relajantes.

El antiguo concepto de que el endotelio vascular es una capa de células inertes está ya desacreditado. Hoy día se sabe que el endotelio es una unidad funcional con propiedades endocrinas, capaz de sintetizar sustancias que permiten mantener basalmente un estado de vasodilatación permanente: EDRF (endotelium derived relaxing factor).

Palmer y cols<sup>119</sup> usando simultáneamente un ensayo químico y un bioensayo demostraron que el EDRF era idéntico al Óxido Nítrico, que se libera continuamente desde las células endoteliales bajo la acción de la bradicinina, permitiendo un tono basal de vasodilatación. Posteriormente Ignarro<sup>120</sup> estableció que el óxido nítrico era un microvasodilatador endógeno.

Actualmente no existen marcadores fiables de actividad del óxido nítrico "in vivo".

El óxido nítrico interviene en la fisiología de la circulación renal actuando a nivel del mesangio, células musculares lisas de los vasos y epitelio tubular<sup>121</sup>. Es probable que la acción vasodilatadora del óxido nítrico sea sinérgica a la prostaglandina I<sup>121</sup>.

El óxido nítrico juega un papel importante en la regulación excretora renal en condiciones basales. Al inhibir la síntesis de óxido nítrico se afectaría en primer lugar la función excretora de los túbulos (que serían los más sensibles) y posteriormente los vasos (aumento de las resistencias vasculares renales y sistémicas<sup>123</sup>).

El óxido nítrico ha sido estudiado inicialmente en pacientes con hipertensión arterial. Wallace<sup>124</sup> en hipertensos y diabéticos encuentra disminución del óxido nítrico.

Corbett y cols<sup>125</sup> sugieren que el óxido nítrico puede ser el agente casual en la aparición de las alteraciones vasculares de la diabetes. El óxido nítrico produce sus efectos a través de la guanilato-ciclase soluble, con el consiguiente aumento de los niveles intracelulares de GMP cíclico<sup>126</sup>. Una forma indirecta de evaluar la liberación tónica de óxido nítrico es medir los niveles de GMP cíclico en el músculo liso. Existen dos trabajos en los que se han medido los niveles de GMP cíclico en vasos procedentes de animales diabéticos con resultados contradictorios<sup>114,127</sup>.

Otra manera de valorar la producción basal de óxido nítrico consiste en evaluar la respuesta "in vivo" a los análogos de la L-arginasa, precursor fisiológico del óxido nítrico<sup>128</sup>, a través de la reacción catalizada por alguno de los isoenzimas de la óxido sintetasa.

Es interesante destacar que la liberación estimulada del óxido nítrico, evaluada a través de la respuesta a la acetilcolina, no estaba deteriorada en los pacientes diabéticos<sup>129</sup>, aunque otros autores si la encuentran descendida<sup>130,131</sup> y esto se explica porque la diabetes afecta selectivamente al receptor muscarínico, pero las modificaciones en la respuesta a otras sustancias (histamina, bradicinina, etc.) sugiere un defecto generalizado de la liberación de este factor endotelial.

Gupta<sup>132</sup> comprueba que la hiperglucemia produce una disminución endotelio-dependiente de la actividad ATPasa-Na+K+ dependiente que revierte tras la adición de L-arginina, implicando al óxido nítrico en la génesis de este efecto de la hiperglucemia.

Además del óxido nítrico, la prostaciclina es el segundo de los factores endoteliales relajantes implicada fehacientemente en las complicaciones vasculares de la diabetes. Este derivado del ácido araquidónico posee efectos vasodilatadores y antiagregantes<sup>133</sup>.

Existen abundantes datos que sugieren una menor síntesis de esta sustancia, en la pared vascular de distintos lechos vasculares arteriales en diferentes enfermedades<sup>134,135</sup>, así como en la diabetes<sup>46,136</sup>.

Junto a modificaciones en la tasa de síntesis de prostaciclina se ha encontrado que en estos vasos de diabéticos la prostaciclina produce vasoconstricción paradójica, en el lugar de la vasodilatación que ocasiona en vasos sanos<sup>137</sup>. Esta vasoconstricción podría estar mediada por la liberación de eicosanoides vasoconstrictores como el tromboxano A<sub>2</sub>.

## 5.2. Factores contráctiles.

El más estrechamente relacionado con la diabetes es el tromboxano A<sub>2</sub><sup>138</sup>. Las respuestas contráctiles endotelio-dependientes inducidas por la acetilcolina en la aorta abdominal de conejos controles preincubados en altas concentraciones de glucosa son abolidas por la inhibición de la ciclooxigenasa y por el antagonista del receptor del tromboxano SQ29548<sup>139</sup>.

Cuando se miden por técnicas de RIA los niveles de tromboxano basales y tras estimulación con acetilcolina, estos niveles se encuentran más elevados en los vasos de animales diabéticos que los controles<sup>140</sup>. Sin embargo, las concentraciones de glucosa utilizadas durante la preincubación de los vasos en estos experimentos se sabe que producen daño tóxico a las células endoteliales<sup>14</sup>.

Gebremedhin y cols.<sup>141</sup> han demostrado que es necesario inhibir la ciclooxigenasa (enzima que participa en la síntesis del tromboxano) para poder observar una alteración en la respuesta endotelio-dependiente a acetilcolina en los segmentos vasculares. Por otro lado sí existe acuerdo entre los distintos autores en relación al aumento de los niveles basales de tromboxano A<sub>2</sub> del probable origen plaquetario en la diabetes<sup>142,143</sup>, así como una mayor sensibilidad del músculo liso a este agente vasoconstrictor<sup>144,145</sup>.

Estudios experimentales en ratas han corroborado el papel del tromboxano glomerular, aumenta al inicio de la nefropatía y que este junto a las endoperoxidasas perpetúan el daño glomerular<sup>146</sup>.

Respecto a otros agentes endoteliales vasoconstrictores, sólo se ha podido comprobar que la endotelina I aumenta su producción cuando hay situaciones concretas de hiperinsulinismo, sin que hasta ahora se pueda relacionar con la patogenia de la diabetes<sup>147,148,149</sup>.

Collier y cols.<sup>150</sup> han observado un incremento de la endotelina plasmática en pacientes con microalbuminuria y por tanto en pacientes con nefropatía en fase de transición.

Fukui<sup>151</sup> ha demostrado en ratas diabéticas que el aumento de la endotelina I se debe a un elevado número de sus receptores a nivel glomerular, mediado posiblemente por una mayor predisposición genética.

## BIBLIOGRAFÍA.

1. Pirart J. Diabetes mellitus and its degenerative complications: a prospective study of 4.400 patients observed between 1947 and 1973. *Diabetes Care*.1978; 1: 168-188.

2. Tchobroytsky G. Relation of diabetic control to development of microvascular complications. *Diabetologia*. 1978; 15: 143-152.
3. Skyler, JS. Complications of diabetes mellitus: relationship to metabolic dysfunction. *Diabetes Care*. 1979; 2: 499-509.
4. Jennings PE, Barnett AH. New approaches to the pathogenesis and treatment of diabetic microangiopathy. *Diabetic. Med*. 1988; 5: 111-117.
5. Siperstein MD, Unger RH, Madison LL. Studies of muscle capillary basement membranes in normal subjects, diabetic and prediabetic patients. *J. Clin. Invest.* 1968, 47: 1973-1999.
6. Viberti GC, Keen H, Wiseman MJ. Raised arterial pressure in patients of proteinuric insulin dependent diabetics. *Br. Med. J.* 1987; 295: 575-577.
7. Kroleswski AS, Canesa M, Warran JH et al. Predisposition to hypertension and susceptibility to renal disease in insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 1988; 318: 140-145.
8. Magili R, Bending J, Scott G et al. A marker for diabetic nephropathy: increased RBC Na<sup>+</sup>/Li<sup>+</sup> exchanger activity. *Diabetes*. 1987; 36 (Suppl. 1): 43A.
9. Friedman EA. Renal syndromes in diabetes. *Endocrinol. Metab. Clin. North. America*. 1996; 25: 293-324.
10. DeFronzo RA. Diabetic nephropathy: Etiologic and therapeutic considerations. *Diabetes Rev.* 1995; 3: 510-564.
11. Trevisan R, Viberti G. Pathophysiology of diabetic nephropathy. En: Leroith D. *Diabetes mellitus*. Philadelphia. Lippincott-Raven. 1996: 727-736.
12. Jones SL, Trevisa NR, Tariq T, et al. Sodium-lithium countertransport activity is increased in microalbuminuria diabetes. *Hypertension*. 1990; 9: 570-575.
13. Weder AB. Red cell sodium-lithium countertransport and renal lithium clearance in hypertension. *N. Engl. J. Med.* 1986; 314: 198-201.
14. Mangili R, Bending JJ, Scott G et al. Increased sodium-lithium countertransport activity in red cells of patients with insulin-dependent diabetes and nephropathy. *N. Engl. J. Med.* 1988; 318: 146-150.
15. Walker JD, Tariq T, Viberti G. Sodium-lithium countertransport activity in red cells of patients with insulin-dependent diabetes and nephropathy and their parents. *Br. Med. J.* 1990; 301: 635-638.
16. Barnett AH, Spiliopoulos AJ, Pyke DA, et al. Muscle capillary basement membrane in identical twins discordant for insulin-dependent diabetes. *Diabetes*. 1983; 32: 557-560.
17. Camerini-Davalos RA, Oppermann W, Rebagliati H, et al. Muscle capillary basement membrane width in genetic prediabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1979; 48: 252-259.
18. Feingod KR, Siperstein MD. Diabetic vascular disease. *Adv. Intern. Med.* 1986; 31: 309-340.
19. Ganda OJ, Williamson JR, Solednerm JS, et al. Muscle capillary basement membrane width and its relationship to diabetes mellitus in monozygotic twins. *Diabetes*. 1983; 32: 549-556.
20. Siperstein MD. Diabetic microangiopathy, genesis, environment and treatment. *Am. J. Med.* 1988; 85 (suppl. 5<sup>a</sup>): 119-130.

21. Weatherall D, Sarvetnick N, Shiruzu JA. Genetic control of diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1992; 35 (suppl 2): 81-87.
22. Khoury MJ, Beaty TH, Flanders WD. Epidemiologic approaches to the use of DNA markers in the search for disease susceptibility genes. *Epidemiol. Rev.* 1990; 12: 41-55.
23. Doria A, Warram JH, Krolewsky AS. Genetic predisposition to diabetic nephropathy. Evidence for a role of the angiotensin I converting enzyme gene. *Diabetes*. 1994; 132: 690-695.
24. Marre M, Bernadet P, Gallois Y, et al. Relationship between Angiotensin I converting enzyme gene polymorphism, plasma levels, and diabetic retinal and renal complications. *Diabetes*. 1994; 43: 284-338.
25. Cambien F, Poirier O, Lecerf L et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature*. 1992; 359: 644-644.
26. Barbosa J, Noreen H, Enme L, et al. Histocompatibility (HLA) antigens and diabetic microangiopathy. *Tissue Antigens*. 1976; 7: 233-239.
27. Parving HH, Kastrup J, Smitdt VD. Reduced trans-capillary escape of albumin during acute blood pressure lowering in type I diabetic patients with nephropathy. *Diabetologia*. 1986; 28: 797-801.
28. Barbosa J, Saner B. Do genetic factors play a role in the pathogenesis of diabetic microangiopathy?. *Diabetologia*. 1985; 27: 487-492.
29. Christiansen JS, Gammelgaard J, Frandsen M, et al. Increased kidney size, glomerular filtration rate and renal plasma flow in short-term insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1981; 20: 451-456.
30. Esmatjes E, Fernández MR, Halperin I, et al. Renal haemodynamic abnormalities in patients with short-term insulin dependent mellitus: role of renal prostaglandins. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1985; 60: 1231-1236.
31. Stalder G, Schmid R. Severe functional disorders of glomerular capillaries and renal haemodynamics in treated diabetes mellitus during childhood. *Am. Pediatric*. 1959; 193: 128-138.
32. Ditzel J, Junker K. Abnormal glomerular filtration rate, renal plasma flow and renal protein excretion in recent and short-term diabetics. *Br. Med. J.* 1972; 2: 13-19.
33. Mogensen CE. Glomerular filtration rate and renal plasma flow in short term and long term juvenile diabetes mellitus. *Scand J. Clin. Lab. Invest.* 1971; 28: 99-100.
34. Brownlee M, Vlassara H, Cerami A. Noenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic complications. *Ann. Intern. Med.* 1984; 101: 527-537.
35. Makita Z, Radoff S, Rayfield EJ, et al. Advance glycosylation and products in patients with diabetic nephropathy. *N. Engl. J. Med.* 1991; 325: 836-842.
36. Wiseman MJ, Andrew J, Saunders Mb. Effect of blood glucose control on increased glomerular filtration rate and kidney size in insulin-dependent diabetes. *N. Engl. J. Med.* 1985; 312: 617-619.
37. Fine L. The biology of renal hypertrophy. *Kidney Int.* 1986; 29: 89-93.
38. Mogensen CE, Steffers MW, Deckert T, et al. Functional and morphological renal manifestations en diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1981; 21: 89-93.

39. **Krolewski AS, Warran JH, Freire MB.** Epidemiology of late diabetic complication: A basis for the development and evaluation of prevention programs. *Endrinol. Metab. Clin. North. America.* 1996;217-242.
40. **Mogensen CE.** Renal functional changes in diabetes. *Diabetes.* 1976; 25 (suppl 2): 872-879.
41. **Wiseman MJ, Mangili R, Alberetto M.** Mechanismos of the glomerular response to glycemic changes in insulin-dependent diabetic subjects. *Kidney Int.* 1987; 31: 1012-1018.
42. **Christiansen JS, Frandsen M, Parving HH.** The effect of intravenous insulin infusion on kidney function in insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia.* 1981; 20: 199-204.
43. **Mogensen CE, Christiansen NJ, Gundersen HJC.** The acute effect of insulin on renal haemodynamics and protein excretion in diabetes. *Diabetologia.* 1978; 15: 153-157.
44. **Uitto J, Peredja A, Grant GA, et al.** Glycosylation of human glomerular basement membrane collagen: with diabetes. *Connet. Tissye Res.* 1982; 10: 287-296.
45. **Blantz RC, Petersen OW, Gushwa L et al.** Effect of modest hyperglycaemia on tubulo-glomerular feedback activity. *Kidney Int.* 1982; 22 (suppl. 12): 206-212.
46. **Carreras LO, Chamone DAF, Klerck P, et al.** Decreased vascular prostacyclin (PG 12) in diabetics rats. Stimulation of PG 12 realease in normal and diabetic rats by the antithrombotic compound Bay g 6375. *Thromb. Res.* 1980; 19: 663-670.
47. **Kasiske BL, O'Donnell MP, Keane.** Glucose-induced increases in renal haemodynamic function: posible modulation by renal prostaglandins. *Diabetes.* 1985; 34: 360-364.
48. **King GL, Banskota NK.** Mechanisms of diabetic microvascular complications. En : Khan CR. Veir GC. Eds. *Joslin's. Diabetes mellitus.* Philadelphia. Lea and Febiger. 1994: 631-647.
49. **Reddi AS.** Diabetes nephropathy. An update. *Arch. Intern. Med.* 1990; 150: 31-43.
50. **Hostetter TH, Rennke HG, Brenner BM.** The case for intrarenal hypertension in the initiation and progresion of diabetic and others glomerulopathies. *Am. J. Med.* 1982; 72: 375-380.
51. **Christiansen JS, Gammelgaard J Orskov H, et al.** Kidney function and size in type I (insulin-dependent) diabetic patients before and during growth hormone administration for one week. *Diabetologia.* 1982; 22: 333-337.
52. **Parving HH, Christiansen JS, Noer I, et al.** The effect of glucagon infusion on kidney function in short-term insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia.* 1989; 19: 350-354.
53. **Wiseman MJ, Redmon H, House F, et al.** The glomerular hyperfiltration of diabetes is not associated with elevated plasma levels of glucagon and growth hormone. *Diabetologia.* 1985; 28: 718-721.
54. **Brenner BM, Hostette TH, Olson MA.** The role of glomerular hyperfiltration in the initiation and progression of diabetic nephropathy. *Acta Endocrinol.* 1981; 242 (suppl. 1): 7-58.
55. **Rudberg S, Persson B, Dahlquist G.** Increased glomerular filtration rate as a predictor of diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 1992; 41: 822-826.

56. Fogo A, Ichikawa I. Evidence for the central role of glomerular growth promoters in the development of sclerosis. *Semin. Nephrol.* 1989; 9: 329-335.
57. Barnett R, Scharschmidt L, et al. Comparison of glomerular and mesangial prostaglandin synthesis and glomerular contraction in two rat models of diabetes mellitus. *Diabetes.* 1987; 36: 1468-1475.
58. Hayashi M, Shietoshi D, Saito I, et al. Changes of blood pressure, urinary kalikrein and urinary prostaglandin E2 in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Arch. Pharmacol.* 1983; 322: 290-294.
59. Reineck HJ, Kreisberg J. Renal vascular response to angiotensin II in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Kidney Int.* 1983; 23:267.
60. Turlapaty PDMW, Lum G, Altura BM. Vascular responsiveness and serum biochemical parameters in alloxan diabetes mellitus. *Am J. Physiol.* 1980; 239: 412-421.
61. Hommel E, Mathiesen E, Edsberg B, et al. Acute reduction of arterial blood pressure reduces urinary albumin excretion in type I diabetics patients with incipient nephropathy. *Diabetologia.* 1980; 29: 2211-2215.
62. Zatz R, Brenner BM. Pathogenesis of diabetic microangiopathy. The haemodynamic review. *Am. J. Med.* 1986; 80: 443-453.
63. Hosteter TH, Troy JL, Brenner BM. Glomerular haemodynamics in experimental diabetes mellitus. *Kidney Int.* 1981; 19: 410-415.
64. Ballerman BJ, Skorecki KL, Brenner BM. Reduced glomerular angiotensin II receptor density and early untreated diabetes mellitus in the rat. *Am. J. Physiol.* 1984; 247: 110-116.
65. Christieb AR. Renin, angiotensin and norepinephrine in alloxan diabetes. *Diabetes.* 1974; 23: 962-970.
66. Marre M, Alhenc-Gelas F, Menard J, et al. Reduction de la kallikreine urinaire chez les diabétiques hypertendus. *Arch. Mal. Coeur.* 1986; 79: 831-834.
67. Wicklmayr M, Rett K, Baldermann H, et al. The kallikrein/kinin system in the pathogenesis of hypertension in diabetes mellitus. *Diabetes Metab.* 1989; 15: 306-310.
68. Adetuyibi A, Mills IH. Relation between urinary kallikrein and renal function hypertension and excretion of sodium and water in man. *Lancet.* 1982; 2: 202-203.
69. Margolius HS, Geller R, Pisano JJ, et al. Altered urinary kallikrein excretion in human hypertension. *Lancet.* 1971; 1: 1063-1065.
70. Pérez Blanco FJ, Cuesta López MJ, Fernández García C, et al. Caliceína renal en la nefropatía diabética. *Rev. Clin. Esp.* 1991; 188: 123-126.
71. Jones SL, Perino N, Benigni A, et al. Glomerular filtration rate (GRF) extracellular fluid volume (EFV) and atrial natriuretic factor (ANF) in insulin-dependent diabetics. *Kidney Int.* 1988; 33: 268-271.
72. Appel RG, Dunn MJ. Effect of systemic atrial natriuretic factor in rat renal papillary collecting tubule cells. *Clin. Res.* 1985; 33: 618.
73. Murray RD, Itoh S, Inagamie T, et al. Effects of systemic atrial natriuretic factor in the isolated perfused rat kidney. *Am. J. Physiol.* 1986; 249: 603-609.
74. Ortola FV, Ballerman BJ, Anderson S, et al. Elevated plasma atrial natriuretic peptide levels in diabetic rats. *J. Clin. Invest.* 1987; 80: 67-74.

75. Solerte SB, Fiovaranti M, Spriano P, et al. Plasma atrial natriuretic peptide renal haemodynamics and microalbuminuria in short-term type I (insulin-dependent) diabetic patients with hyperfiltration. *Diabetologia*. 1987; 30: 584.
76. Jungmann E, Graeber S, Scherberich J, et al. Zum einfluss des humanen atrialwn natriuretischen peptids auf die. Pathogenese der nephrophie bei patienten mit type I diabetes mellitus. *Med. Klin*. 1992; 87: 622-625.
77. Persson P, Ehmke H, Kögler U. Modulation of natriuresis by sympathetic nerve and angiotensin II in conscious dog. *Am. J. Physiol*. 1989; 256: F485-F489.
  
78. Kirchheim HR, Ehmke H. Vasoactive hormones: modulators of renal function. *Clin. Invest*. 1994; 72: 685-687.
79. Brenner BM, Humes HD. Mechanisms of glomerular ultrafiltration. *N. Engl. J. Med*. 1977; 297: 148-154.
80. Brownlee M, Spiro RG. Glomerular basement membrane metabolism in the diabetic rats. In vivo studies. *Diabetes*. 1979; 28: 121-125.
81. Cohen MP, Surma ML. Renal glomerular basement membrane. In vivo biosynthesis and turnover in normal rats. *J. Biol. Chem*. 1980; 255: 1766-1770.
82. Cohen MP, Surma ML. Sulfate incorporation into glomerular basement membrane glycosaglycans is decreased in experimental diabetes. *J. Lab. Clin. Med*. 1981; 98: 715-722.
83. Kanwar YS, Farquhar MG. Anionic sites in the glomerular basement membrane. *J. Cell. Biol*. 1978; 81: 137-153.
84. Stenberg M, Cohen-Forsterre L, Peyroux J. Connective tissue in diabetes mellitus biochemical alterations of the intracellular matrix with special reference to proteoglycan, collagen and basement membranes. *Diabetes Metab*. 1985; 11: 27-50.
85. Brownlee M, Pongor S, Cerami A. Covalent attachment of soluble proteins by nonenzymatically glycosylated collagen: role in the in situ formation of immune complexes. *J. Expe. Med*. 1983; 158: 1739-1744.
86. Osterby R. A quantitative stimate of the peripheral glomerular basement membrane in recent juvenile diabetes. *Diabetologia*. 1965; 1: 97-100.
87. Kilo C, Vogler N, Williamson JR. Muscle capillary basement membrane changes related to aging and to diabetes mellitus. *Diabetes*. 1972; 21: 881-905.
88. Knowles HC JR. Long term juvenile diabetes trated with measured diet. *Trans. Assoc. Am. Physicians*. 1971; 84: 95-99.
89. Krolewski AS, Warram JH, Christlieb AR, et al. The changing natural history of nephropathy in type I diabetes. *Am. J. Med*. 1985; 78: 785-794.
90. Engerman R, Bloodworth JM JR, Nelson S. Relationship of microvascular disease in diabetes to metabolic control. *Diabetes*. 1977; 26: 760-769.
91. Ennis G, Muller M, Unger FM, et al. Intercapillary glomeruloesclerosis in diabetes secondary to chronic relapsing pancreatitis. *Diabetes*. 1969; 18: 333-336.
92. Mauer SM, Steffes MW, Brown DM. Animal models of diabetes nephropathy. *Adv. Nephrol*. 1979; 8: 23-42.
93. Steffers MW, Mauer SM. Diabetic glomerulopathy in man and experimental animal models. *Int. Rev. Exp. Pathol*. 1984; 26: 147-175.

94. Fox CJ, Darby SC, Ireland JT, et al. Blood glucose control and glomerular capillary basement membrane thickening in experimental diabetes. *Br. Med. J.* 1977; 2: 606-607.
95. Petersen J, Ross J, Rabkin E. Effect of insulin therapy on established diabetic nephropathy in rats. *Diabetes.* 1988; 37: 1346-1350.
96. Land DW, Landgraf WD, Illner R, et al. Improved results in combined segmental pancreatic and renal transplantation in diabetic patients under cyclosporine therapy. *Transplantation Proceedings.* 1985; 17: 317-324.
97. Lee CE, Mauer SM, Brown DM, et al. Renal Transplantation in diabetes mellitus in rats. *J. Exp. Med.* 1974; 139: 793-800.
98. Abouna GM, Al-Adnani MS, Kremer GD, et al. Reversal of diabetic nephropathy in human cadaveric kidneys after transplantation into non diabetic recipients. *Lancet.* 1988; 2: 1274-1276.
99. Mauer SM, Barbosa J, Vernier RL, et al. Development of diabetic vascular lesions in normal kidneys transplanted into patients with diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 1976; 295: 916-920.
100. Kroc Collaborative Study Group. Blood glucose control and evolution of diabetic retinopathy and albuminuria: a preliminary multicenter trial. *N. Engl. J. Med.* 1985; 311: 365-372.
101. DCCT Research Group. The diabetes Control and complications trial (DCCT): design and methodologic consideration for the feasibility phase. *Diabetes.* 1986; 35: 530-545.
102. DCCT Research Group. Diabetes Control and complication trial (DCCT): results of feasibility study. *Diabetes Care.* 1987; 10: 1-9.
103. DCCT Research Group. Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) update. *Diabetes Care.* 1990; 13: 427-433.
104. DCCT Research Group. The effect on 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.
105. Barbes AJ, Locke P, Scudder PR, et al. Is hyperviscosity a treatable component of diabetic microcirculator disease?. *Lancet.* 1977; 2: 789-791.
106. McMillan D. The effect of diabetes on blood flow properties. *Diabetes.* 32 (suppl 2) 56-63.
107. Colwell JA, Winocour PD, Halushkya PV. Do platelet have anything to do with diabetic microvascular disease. *Diabetes.* 1983; 32 (suppl 2): 14-18.
108. Mustard JF, Packham MA. Platelets and diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 1984; 311: 665-667.
109. Barnett AH, Leatherdale BA, Polak A, et al. Specific thromboxane synthetase inhibition and albumin excretion rate in insulin dependent diabetes. *Lancet.* 1984; 1: 1322-1324.
110. Chimielewski JH, Farbisxeeski R. Platelet factor 4 releas during human platelet aggregation in diabetic patients. *Thromb. Haemos.* 1970; 24: 203-205.
111. Donadio JV, Duane M, Ilstrup MS, et al. Platelet-inhibitor treatment of diabetic nephropathy: a 10 year prospective study. *Mayo Clin. Proc.* 1988; 63: 3-15.

112. **Porta M, Townsend C, Clover GM, et al.** Evidence for functional endothelium cell damage in early diabetic retinopathy. *Diabetologia*. 1981; 20: 597-601.
113. **Hanssen KF, Dahl-Jorgensen K, Lauritzen, et al.** Diabetic Control and microvascular complications: the near normoglycemic experience. *Diabetologia*. 1986; 29: 677-684.
114. **Harris KH, Macleod KM.** Influence of the endothelium on contractile responses of arteries from diabetic rats. *Eur J. Pharmacol.* 1988; 153: 55-64.
115. **Head RJ, Longhyrst Pa, Panek RL, et al.** A contrasting effect of the diabetic state upon the contractile responses of aortic preparations from the rat and rabbit. *Br. J. Pharmacol.* 1987;91: 275-286.
116. **Rubanyi GM.** Endothelium-derived vasoactive factors in health and disease, en Rubanyi GM de Cardiovascular significance of endothelium-derived vasoactive factors. Nueva York.. 1991; 11-14.
117. **Cohen RA, Weisbrod RM.** Endothelium inhibits norepinephrine release from adrenergic nerves of rabbit carotid artery. *Am. J. Physiol.* 1988; 254: 871-878.
118. **Mulhern M, Docherty JR.** Effects of experimental diabetes on the responsiveness of rat aorta. *Br. J. Pharmacol.* 1989; 97: 1007-1012.
119. **Palmer RM, Ferrige AG, Moncada.** Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*. 1987; 327: 524-526.
120. **Ignarro LJ.** Nitric oxide. A novel signal transduction mechanism for transcellular communication. *Hypertension*. 1990; 16: 477-483.
121. **Salazar F, Pinilla JM, López F, et al.** Renal effects of prolonged synthesis inhibition of endothelium-derived nitric oxide. *Hypertension*. 1992; 20: 113-117.
122. **Salom MG, Lahera V, Romero JC.** Role of prostaglandins and endothelium-derived relaxing factor on the renal response to acetylcholine. *Am. J. Physiol.* 1991; 269: 145-149.
123. **Schultz P, Schoerer AE, Rij L.** Effects of endothelium-derived relaxing factor and nitric oxide on rat mesangial cells. *Am. J. Physiol.* 1990; 258: 162-167.
124. **Vallace P, Calver A, Collier J.** The vascular endothelium in diabetes and hypertension. *J. Human Hypertens.* 1992; 10 (suppl 1): 525-529.
125. **Corbett JA, Tilton RG, Chang K, et al.** Aminoguanidine, a novel inhibitor of nitric oxide formation, prevents diabetic vascular dysfunction. *Diabetes*. 1992; 41: 552-556.
126. **Marín J, Sánchez-Ferrer CF.** Role of endothelium-formed nitric oxide on vascular responses. *Gen. Pharmacol.* 1990; 21: 575-587.
127. **Kamata K, Miyata N, Kasuga Y.** Impairment of endothelium-dependent relaxation and changes in levels of cyclic GMP in aorta from streptozotocin-induced diabetic rats. *Br. J. Pharmacol.* 1989; 97: 614-618.
128. **Palmer RM, Rees DD, Ashton DS.** L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Biochem Biophys. Res Commun.* 1988; 153: 1251-1256.
129. **Calver A, Collier J, Vallance P.** Inhibition and stimulation of nitric oxide synthesis in the human forearm arterial bed of patients with insulin-dependent diabetes. *J. Clin. Invest.* 1992; 90: 2548-2554.

130. **Brennan GM, McVeigh GE, Johnston GD, et al.** Impaired endothelium-dependent and independent responses in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1991; 32: 648.
131. **Sáez de Tejada I, Goldstein I, Azadzi K, et al.** Impaired neurogenic and endothelium-mediated relaxation of penile smooth muscle from diabetic men with impotence. *N. Engl. J. Med.* 1989; 320: 1025-1030.
132. **Gupta S, Sussman I, McArthur CS, et al.** Endothelium-dependent inhibition of  $NA^+/K^+$  ATP-ase activity in rabbit aorta by hyperglucemia. *J. Clin. Invest.* 1992; 90: 727-732.
133. **Bunting S, Gryglewski RJ, Moncada S, et al.** Arterial walls generate from prostaglandin endoperoxides a substance (prostaglandin X) which relaxes strips of mesenteric and coeliac arteries and inhibits platelet aggregation. *Prostaglandins.* 1979; 12: 897-913.
134. **Harrison HE, Reece AH, Johnson M.** Decrease vascular prostacyclin in experimental diabetes. *Life Sci.* 1978; 23: 351-356.
135. **Myers TO, Messina EJ, Rodríguez AM, et al.** Altered aortic and cremaster muscle prostaglandin synthesis in diabetic rats. *Am. J. Physiol.* 1985; 249: 374-379.
136. **Silberbauer K, Scherthaner G, Sinzinger H, et al.** Decreased vascular prostacyclin in juvenile-onset diabetes. *N. Engl. J. Med.* 1979; 300: 366-367.
137. **Agrawal DK, Bhimji S, McNeill JH.** Effect of chronic experimental diabetes on vascular smooth muscle function in rabbit carotid artery. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1987; 9: 584-593.
138. **Ziboh VA, Maruta H, Lord J, et al.** Increased biosynthesis of thromboxane  $A_2$  by diabetic platelets. *Eur. J. Clin. Invest.* 1979; 9: 223-228.
139. **Tesfamarian B, Brown ML, Deykin D, et al.** Elevated glucose promotes generation of endothelium derived vasoconstrictor prostanoids rabbit aorta. *J. Clin. Invest.* 1990; 85: 929-936.
140. **Butkus A, Shiny EK, Schumacher OP.** Thromboxane biosynthesis in platelets of diabetic and coronary artery disease patients. *Artery.* 1982; 11: 238-251.
141. **Gebremedhin D, Koltai MZ, Pogatsa G, et al.** Influence of experimental diabetes on the mechanical responses of coronary arteries: role of endothelium. *Cardiovasc. Res.* 1988; 22: 537-544.
142. **Haluska PV, Rogers RC, Loadholt CB, et al.** Increased platelet thromboxane synthesis in diabetes mellitus. *J. Lab. Clin. Med.* 1981; 97: 87-96.
143. **Ylikurkka O, Kaila J, Viinikka L.** Prostacyclin and thromboxane in diabetes. *Br. Med. J.* 1981; 283: 1148-1150.
144. **Roth DM, Reibel DK, Lefler AM.** Vascular responsiveness and eicosanoid production in diabetic rats. *Diabetologia.* 1983; 24: 372-376.
145. **Kontessis PS, Jones JL, Barrow SE, et al.** Effect of selective inhibition of thromboxane synthesis on renal function in diabetic nephropathy. *J. Lab. Clin. Med.* 1993; 121: 415-423.
146. **Craven PA, Melhem MF, Rubertis FR.** Thromboxane in the pathogenesis of glomerular injury in diabetes. *Kidney Int.* 1992; 42 (suppl 4): 937-946.
147. **Hattori Y, Kasai K, Nakamura T, et al.** Effect of glucose and insulin immunoreactive endothelium release from cultured porcine aortic endothelial cells. *Metabolism.* 1991; 40: 164-169.

148. **Takahashi K, Ghatel MC, Lam HC, et al.** Elevated plasma endothelin in patients with diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1990; 33: 306-310.
149. **Krämer BK, Ackermann M, Kohler SM, Riegger GA.** Role of endothelin in hypertension. *Clin. Invest.* 1994; 72: 88-93.
150. **Collier A, Leach JP, McLellan AM, et al.** Plasma endothelinlike immunoreactivity levels in IDDM patients with microalbuminuria. *Diabetes Care*. 1992; 15: 1038-1040.
151. **Fukui M, Nakamura T, Ebihara I, et al.** Gene expression for endothelins and their receptors in glomeruli of diabetic rats. *J. Lab. Clin. Med.* 1993; 122: 149-156.

## CAPITULO 3

# ALTERACIONES FUNCIONALES E HISTORIA NATURAL DE LA NEFROPATÍA DIABÉTICA

La nefropatía diabética que puede considerarse cuando hay proteinuria persistente de más de 0,5 gr/24 horas, suele desarrollarse tras 12-20 años de diabetes. Viene precedida de una larga fase silente en la que pueden detectarse en el riñón alteraciones tanto estructurales como funcionales, a menudo desde una etapa muy precoz en el curso de la diabetes.

Estos cambios funcionales pueden ser considerados según las tres principales fases de la historia natural de la nefropatía diabética:

Fase precoz.

Fase de transición.

Fase tardía.

### 1. FASE PRECOZ.

En la fase inicial de la nefropatía del paciente diabético se producen una serie de alteraciones funcionales que vamos a estudiar detalladamente:

#### 1.1. Hiperfiltración glomerular.

La hiperfiltración glomerular (índice de filtración glomerular aumentado de forma anormal) puede observarse en el hombre en varias situaciones fisiológicas y patológicas<sup>1,2</sup>, pero es muy característico y más frecuente en pacientes diabéticos tipo I cuando el control metabólico no es perfecto.

Los estudios de filtración glomerular en diabéticos con nefropatía en fase inicial, han sido analizados por numerosos autores<sup>3,4</sup>.

Varios investigadores han intentado definir el estímulo específico que determina una hiperfiltración glomerular en fase temprana de la diabetes. Un factor indiscriminado ha sido la elevación de la glucemia "per se". En efecto, es posible demostrar elevaciones agudas del índice de filtración glomerular en sujetos normales cuando se infunde glucosa por vía endovenosa hasta alcanzar niveles hiperglucémicos, pero dichas elevaciones del filtrado glomerular han sido moderadas, con incremento del orden del 6-15%<sup>4,5</sup>. En los pacientes diabéticos el grado de hiperfiltración es mucho mayor<sup>6</sup> y desciende cuando se infunde insulina, aunque la deficiencia de insulina es una causa improbable de las elevaciones del índice de filtración glomerular.

Además de estos niveles alterados de glucosa y de las hormonas metabólicamente relacionadas (insulina, glucagón, hormona del crecimiento), es posible que en la diabetes tengan lugar numerosas alteraciones de los niveles circulantes de hormonas vasoactivas y de las respuestas vasculares a dichas hormonas<sup>7</sup>. Christlieb ha demostrado que los niveles de renina generalmente están deprimidos en animales de experimentación con una

diabetes en fase temprana. La disminución de la actividad de la renina se ha relacionado con la tendencia a la expansión del volumen sanguíneo, que podría contribuir a la elevación del índice de filtración glomerular.

En ratas con diabetes inducida con estreptozotocina Ballermann y cols. han demostrado que no solamente no aumentan los niveles de renina circulantes, sino tampoco los de angiotensina II que se fija en los glomérulos diabéticos. También se han demostrado alteraciones de la producción de catecolaminas y prostaglandinas y/o una reducción de las respuestas vasculares a dichas sustancias en diversas circunstancias asociadas a la diabetes<sup>7,8</sup>.

Kock-Jensen<sup>9</sup> indica que la producción renal de prostaglandina podría ser un factor especialmente importante en la filtración glomerular en animales de experimentación en una fase temprana de la diabetes, dado que la administración de indometacina en dichos animales se asoció con reducciones sustanciales del filtrado glomerular. Shambelan<sup>10</sup> demuestra una síntesis aumentada de prostaglandinas en glomérulos aislados obtenidos de ratas diabéticas.

Estos estudios resaltan el importante papel desempeñado por la alteración de la síntesis de prostaglandinas renales en las modificaciones hemodinámicas de la diabetes en su fase temprana.

Los fundamentos hemodinámicos intrarrenales de hiperfiltración en pacientes diabéticos, también han sido estudiados.

La filtración glomerular está gobernada por cuatro factores:

**En primer lugar**, el flujo plasmático glomerular afecta a la presión media de la ultrafiltración y en consecuencia mantiene una relación directa con el índice de filtración glomerular. En diabéticos en fase temprana el flujo plasmático renal está íntimamente relacionado con el estado de hiperfiltración<sup>3,4,11</sup>. Dado que el flujo plasmático renal se estima por el método de depuración del para-aminohipurato se ha utilizado, aunque algunos lo discuten, para evaluar la función renal en los pacientes diabéticos con nefropatía incipiente<sup>12</sup>.

**En segundo lugar** es la presión osmótica sistémica la que interviene en buena parte de la regulación del flujo glomerular. En la diabetes mellitus no se han encontrado alteraciones de esta presión osmótica, de acuerdo con las estimaciones de las concentraciones de diferentes proteínas plasmáticas<sup>2</sup>.

**El tercer factor** determinante del índice de filtrado glomerular es la diferencia de presión hidráulica transcápilar glomerular, la cual no puede ser determinada en el ser humano.

**El cuarto y último factor** es el coeficiente de ultrafiltración glomerular, el producto de la conductividad hidráulica capilar y el área de la superficie de la red capilar disponible para la filtración. Ninguno de dichos parámetros puede ser estimado o medido en forma independiente en la actualidad.

Las determinaciones del área capilar glomerular total muestran un claro incremento en la fase temprana de la diabetes, tanto en el ser humano como en animales de experimentación<sup>13,14</sup>. Estos hallazgos han sugerido que la hiperfiltración será la consecuencia, por lo menos en parte, del incremento del área de superficie glomerular. Se han establecido correlaciones entre el valor del índice de filtración glomerular y determinaciones morfométricas del área de superficie glomerular en biopsias renales humanas<sup>15</sup>.

A fin de aclarar exhaustivamente las bases hemodinámicas de la hiperfiltración en la fase temprana de la diabetes, diversos estudios de diabetes experimental en ratas han empleado técnicas de micropunción. En ratas convertidas en diabéticas con estreptozocina, cuando los niveles de hiperglucemia fueron mantenidos a un nivel moderado (una media de 375 mg/dl) mediante la infusión diaria de bajas dosis de insulina, estos animales presentaron incrementos del índice de filtración glomerular por nefrona aislada de la corteza del orden de un 40%. Así en este modelo animal se reprodujo la hiperfiltración observada en la fase temprana de la diabetes humana.

Varios modelos experimentales de diabetes también han demostrado una hiperfiltración similar a la observada en la diabetes humana. Dicha hiperfiltración se registró en la diabetes en ratas inducidas por aloxano<sup>14</sup>, en perros y ratas pancreatectomizadas y en dos cepas de ratones con diabetes espontánea<sup>17</sup>.

La hiperfiltración glomerular que se da en las fases iniciales de la diabetes se debe a múltiples factores. Se ha visto que aparece en el 25-40% de la diabetes mellitus tipo I en humanos<sup>16</sup> y tiene una gran importancia en la patogénesis y desarrollo de la nefropatía diabética<sup>18</sup>.

En la diabetes mellitus tipo II los resultados realizados sobre el filtrado glomerular son escasos y poco concluyentes.

## 1.2 Excreción de albúmina.

La proteinuria clínicamente detectable no se encuentra presente en pacientes con una nefropatía diabética en su fase inicial. Sin embargo, durante este período de la enfermedad es posible detectar albuminuria excesivamente elevada en dos circunstancias: en pacientes con un control metabólico deficiente<sup>19</sup> y después de un ejercicio físico moderado<sup>20</sup>. Estas circunstancias de estrés metabólico y físico que conducen a incrementos anormales leves, pero detectables de la excreción de albúmina no se acompañan, sin embargo, de la excreción urinaria de  $\beta_2$ -microglobulina. Dado que la  $\beta_2$ -microglobulina es una proteína de bajo peso molecular (aproximadamente 20.000 daltons) y con un radio molecular aproximadamente 16Å, normalmente es libremente filtrada a través de la pared capilar glomerular y reabsorbida en gran medida por el epitelio tubular proximal. Por lo tanto el índice de excreción de estas proteínas es en gran medida un indicador del grado de captación tubular de la proteína filtrada. Así una excreción constante de  $\beta_2$ -microglobulina en presencia de una microalbuminuria creciente indica que el exceso de albúmina no es el resultado de una alteración de la reabsorción proteica a nivel tubular, sino derivada de un escape glomerular excesivo. Si la albuminuria es de origen glomerular el problema debe ser consecuencia de alguna alteración de los determinantes normales de la filtración proteica<sup>21</sup>.

El grado de filtración de proteínas plasmáticas, así como de cualquier otra macromolécula, a través de los capilares glomerulares depende fundamentalmente de tres factores:

1) **El tamaño de las moléculas**, que determina su permeabilidad relativa<sup>22</sup>; en consecuencia las moléculas pequeñas (por ejemplo la insulina) no se retienen en ningún grado mensurable, mientras que la filtración de las moléculas de mayor tamaño sufren un retardo progresivo, de modo que las moléculas con un radio mayor de 40 Å atraviesan escasamente el capilar glomerular. La posibilidad de que un defecto de las propiedades

selectivas del tamaño a nivel del glomérulo contribuya a la microalbuminuria de la fase temprana de la diabetes es un hecho evaluado por Mogensen y confirmado posteriormente por Myers y cols.<sup>23</sup>.

2) Además de ser selectiva la pared capilar glomerular con el tamaño de las moléculas también hay **selectividad de carga macromolecular**, dado que las macromoléculas con carga negativa se filtran con mayor dificultad que las macromoléculas neutras o con carga positiva de un tamaño equivalente<sup>24</sup>. Es improbable que la microalbuminuria temprana, inducida por descontrol metabólico y el ejercicio físico, se deba a modificaciones de la selectividad de cargas, ya que desaparece demasiado rápidamente como para ser atribuidas a modificaciones de las propiedades eléctricas de la pared capilar glomerular<sup>19</sup>.

3) El tercer determinante de la filtración de proteínas a través del glomérulo es el conjunto de **fuerzas hemodinámicas** que operan a través de la pared glomerular. Las modificaciones de las presiones y flujo glomerular afectan tanto a las fuerzas de difusión como a la fuerza de convención para el flujo transglomerular de las macromoléculas<sup>25</sup>.

En pacientes y animales diabéticos, incluso en presencia de grados moderados de hiperglucemia, se observan alteraciones hemodinámicas renales de importancia que responden rápidamente a las modificaciones del control metabólico.

La microalbuminuria detectada en fases tempranas de la diabetes mal controlada probablemente sea la consecuencia, por lo menos en parte, de alteraciones asociadas a la hemodinámica glomerular<sup>26</sup> e incluso a alteraciones sistémicas<sup>20,27</sup>.

Por tanto en las fases iniciales de la nefropatía diabética la presencia aislada de albuminuria tras ejercicio físico o por un mal control metabólico va a tener poco significado en términos de la evolución posterior de la enfermedad renal.

### 1.3. Función tubular.

En la fase temprana de la diabetes también es posible detectar alteraciones de la función tubular. En estos pacientes hay una elevación considerable de los índices máximos de reabsorción de glucosa<sup>28</sup>. La reabsorción absoluta de sodio, también está aumentada<sup>29</sup>. Esto último probablemente se deba al cotransporte tubular proximal asociado con la glucosa, la cual se encuentra presente en concentraciones anormalmente altas.

Por otra parte, la reabsorción tubular de fosfato se encuentra reducida en estos pacientes diabéticos, al parecer en relación con el nivel de glucemia y no de los niveles de hormona paratiroidea o del crecimiento, como cabría esperar.

Las repercusiones relacionadas con la función renal global de estas alteraciones del transporte de sodio, glucosa y fosfato se desconocen.

## 2. FASE DE TRANSICION.

La nefropatía diabética va progresando pudiendo aparecer un signo clínico como es la hipertensión arterial; sigue aumentando la tasa del filtrado glomerular, pero el hecho fisiopatológico fundamental que define este estadio de la diabetes mellitus es la presencia de microalbuminuria.

## 2.1. Microalbuminuria.

Se entiende por microalbuminuria la excreción urinaria de albúmina entre 20-200 µg/min., que equivale a 30-300 mg/24h., en ausencia de proteinuria detectable por los métodos habituales<sup>30</sup>.

Hasta el momento actual la microalbuminuria sólo ha sido un parámetro de gran utilidad en la valoración del paciente diabético, no obstante existen otras situaciones, en las que se produce aumento de la excreción de microproteínas, como ocurre en la hipertensión arterial<sup>31</sup>, síndrome hemolítico urémico<sup>32</sup>, fiebre mediterránea familiar<sup>33</sup> o en la glucogenosis tipo I<sup>34</sup>. Además se ha utilizado como marcador de riesgo vascular en la anemia falciforme y en el déficit de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa<sup>35</sup>.

La microalbuminuria es la primera manifestación clínica de la nefropatía diabética. Aunque en ocasiones puede aparecer mucho antes que otras alteraciones renales, e incluso antes de diagnosticar al paciente de diabetes. Mykkanen<sup>36</sup> aseguró que puede presentarse microalbuminuria en el estado de prediabetes junto con otras alteraciones como la dislipemia<sup>37</sup> o intolerancia a la glucosa<sup>38</sup>. Inicialmente puede ser ocasional pero cuando se hace persistente conlleva un riesgo elevado de nefropatía lo que justifica el término de nefropatía incipiente o paciente de alto riesgo<sup>39</sup>. Es por tanto un signo pronóstico de nefropatía si se encuentra microalbuminuria en dos o tres muestras de orina, tomadas consecutivamente, de preferencia dentro de un plazo de seis meses. No debe de haber bacteriuria significativa en la orina, ya que se modifican los resultados. Existen situaciones con nefropatía diabética en fase avanzada en que hay ausencia de albuminuria, por lo que autores como Tsalamandris<sup>40</sup> sugieren que no tiene valor pronóstico. No obstante se ha comprobado en la mayoría de los casos la correlación que existe entre albuminuria y aumento de la presión arterial<sup>41</sup> y otras manifestaciones vasculares de la diabetes<sup>42</sup> por lo que podemos decir que la microalbuminuria tiene valor para predecir con el menor error la evolución posterior de la nefropatía.

La microalbuminuria se origina por la hiperfiltración glomerular y la alteración selectiva de la permeabilidad de la membrana basal<sup>24,43-45</sup>.

La base estructural de la microalbuminuria sigue sin aclararse. Para unos estaría relacionada con la expansión del mesangio y para otros en el engrosamiento de la membrana basal<sup>18,46,47</sup>. La barrera capilar sangre-orina es como una membrana con poros cargados negativamente. El paso de partículas por esta barrera depende del tamaño y carga de estas moléculas, así como del gradiente de presión intraglomerular<sup>18</sup>. La microalbuminuria altera la selectividad de la barrera probablemente por la pérdida de cargas negativas de la membrana basal (atribuible a la pérdida del proteoglicano heparán sulfato) y consecuentemente aumenta la filtración de albúmina<sup>22,48</sup>.

La relación albuminuria/proteínas totales en personas normales es del 11% y cuando aparece microalbuminuria es del 22%<sup>27</sup>.

La determinación de microalbuminuria se puede hacer en orina de 24 horas o en periodos cortos de tiempo, siendo más conveniente en este caso la orina de por la noche, ya que se ha comprobado excreción más baja en posición supina<sup>49</sup>. Los métodos de determinación pueden ser muy variados. Cuantitativos como el Ria, Elisa, nefelometría, fluorodifusión, etc. o cualitativos como microalbutest (cambio de color azul del tetrabromofenol en presencia de proteínas) y partículas de látex (aglutinación)<sup>50-56</sup>.

El diagnóstico precoz de nefropatía mediante la determinación de microalbuminuria tiene gran valor<sup>57</sup>, pero además se utiliza para considerar el posible

tratamiento antihipertensivo al que vamos a someter al paciente. Estudios minuciosos han comprobado<sup>58-60</sup> la utilidad del screening para microalbuminuria antes de iniciar el tratamiento de la nefropatía diabética.

## 2.2. Hiperfiltración glomerular.

Se ha sugerido que una tasa de filtración glomerular elevada puede ser de importancia en la patogénesis y progresión de la nefropatía diabética. En asociación con la microalbuminuria puede ser un marcador de " riesgo elevado ". Sin embargo el significado pronóstico de hiperfiltración glomerular en ausencia de microalbuminuria es incierto<sup>61,62</sup>.

## 3. FASE TARDIA.

Es la fase de nefropatía diabética establecida. La proteinuria intermitente suele ser la primera manifestación y puede continuar a lo largo de los años antes del desarrollo de la proteinuria persistente. La aparición de proteinuria persistente señala el inicio de un deterioro gradual y progresivo de la función renal. El intervalo entre el inicio de la proteinuria y la muerte por la uremia puede variar entre pocos y 20 años. Los factores responsables de este deterioro variable de la función renal son desconocidos, pero los pacientes que presentan proteinuria e hipertensión graves parecen tener peor pronóstico.

Las alteraciones más importantes que se producen en esta fase son: hipofiltración glomerular, proteinuria e hipertensión.

### 3.1 Hipofiltración glomerular

Los mecanismos hemodinámicos responsables de la reducción del índice de filtración glomerular en la nefropatía diabética establecida no han sido completamente definidos.

Las determinaciones realizadas en pacientes con una reducción del índice de filtrado glomerular hasta valores de 20-30 ml/min., indican la presencia de reducciones proporcionales del filtrado plasmático renal, de modo que la fracción de filtración permanece relativamente constante en estos pacientes<sup>63</sup>. En consecuencia, la reducción del índice de filtrado glomerular puede ser atribuida parcialmente a la reducción del filtrado plasmático renal. Además, también podría explicarse por modificaciones del coeficiente de ultrafiltración como consecuencia de la expansión mesangial y la oclusión capilar<sup>64,65</sup>. Sin embargo, no se ha establecido con certeza el papel funcional desempeñado por dichas alteraciones morfológicas, dado que no es posible determinar los gradientes de presión hidráulica transcápilar en un contexto clínico. De todas maneras las estimaciones efectuadas sobre la base de mediciones indirectas en pacientes con nefropatía diabética avanzada son compatibles con una reducción del coeficiente de ultrafiltración debido a una disminución de la superficie capilar glomerular disponible para la filtración<sup>63</sup>.

La edad, sexo, inicio o duración de la diabetes, la tasa de aclaramiento de albúmina, la tasa de filtración glomerular inicial o el control de la glucosa en sangre no se relacionan con el deterioro del índice de filtración glomerular. La monitorización de la

función renal en los pacientes con nefropatía diabética es importante ya que puede predecirse el curso de los sucesos en el tiempo. En los estadios precoces debe determinarse el índice de filtración glomerular, ya que la creatinina no aumenta hasta que ésta ha disminuido entre el 50% y el 75%. Una vez que el índice de creatinina ha ascendido por encima de 200 mmol/l. se correlaciona estrechamente con el estado de deterioro renal y esto puede ser estimado representando gráficamente el valor inverso de la creatinina sérica frente al tiempo<sup>27,66,67</sup>.

### 3.2 Proteinuria

La proteinuria aumenta al tiempo que progresa la nefropatía diabética. Se define como la excreción urinaria de albúmina superior a 200 µg/min. o 300 mg/24h., que equivale a 0,5 gr. de proteínas/día<sup>68</sup>.

La causa íntima de la excreción aumentada de albúmina se desconoce con certeza en la nefropatía diabética, pero podríamos implicar a tres mecanismos fundamentales en su patogenia:

1) *Aumento de la presión intraglomerular.* "Fuerza" el paso de albúmina a través del filtro glomerular. Esto explicaría el efecto beneficioso de los antihipertensivos disminuyendo esta excreción urinaria de albúmina (todos en general y los inhibidores ECA en particular tienen un efecto más selectivo sobre el flujo glomerular)<sup>69</sup>. De modo similar explicaría el efecto beneficioso de la dieta hipoproteica disminuyendo también la excreción de albúmina, pues actuaría disminuyendo la aminoacidemia de conocido efecto presor en los capilares renales por su capacidad estimuladora de la secreción de prostaglandinas locales<sup>70,71</sup>.

2) *Aumento del tamaño del poro* en la barrera de filtración glomerular, que lógicamente facilitaría el paso masivo de macromoléculas como la albúmina, hasta llegar progresivamente a un eventual síndrome nefrótico<sup>23,72</sup>.

3) *Disminución de la selectividad de la carga eléctrica* en la membrana de filtración glomerular que facilitaría el paso de moléculas eléctricamente negativas (como la albúmina) a través de la membrana basal glomerular<sup>73</sup>. Una pérdida neta de cargas negativas a nivel de la membrana basal glomerular podría explicarse, por ejemplo, por un defecto parcial en la sulfatación de proteoglicanos que normalmente le confieren un carácter electronegativo (predeterminado de forma genética) o bien por una alteración adquirida, como resultado de una glicación proteica aumentada del colágeno de la membrana basal glomerular que determinaría cambios en la estructura terciaria y cuaternaria con efecto neto sobre su carga eléctrica de superficie.

Según las últimas investigaciones el mecanismo más precoz parece ser precisamente éste último de la alteración de la selectividad eléctrica<sup>74</sup>.

Este mecanismo es posiblemente la clave de su precocidad. Esta claro que este cambio de selectividad eléctrica ocurre antes que la alteración en el tamaño del poro a nivel glomerular. Para demostrar este punto se ha estudiado el aclaramiento renal de dextranos de diferentes tamaños bien caracterizados así como el aclaramiento de diversas moléculas IgG. En dichos trabajos se logró calcular simultáneamente la selectividad de filtración en cuanto a tamaño de poros (aclaramiento de dextranos), así como la selectividad en cuanto a carga eléctrica (índice de selectividad eléctrica para IgG)<sup>75</sup>. Por lógica, si hubiese una alteración de la carga eléctrica neta de las proteínas de la membrana de filtración glomerular (disminución de cargas negativas de superficie) el

aclaramiento de IgG (con mayor carga eléctrica negativa) sería mayor, puesto que se perdería parcialmente la normal repulsa negativo-negativo entre las cargas de las proteínas de la membrana de filtración y las de la albúmina. Los resultados indicaron que el índice de selectividad eléctrica estaba ya drásticamente disminuido en los primeros estadios de microalbuminuria incipiente, mientras que el tamaño de los poros sólo se empezó a detectar en fase mucho más avanzada de franca proteinuria<sup>76</sup>.

Esto se interpreta como una pérdida precoz de la selectividad eléctrica en la barrera glomerular y no en la barrera tubular.

La alteración de base en la carga eléctrica de la membrana basal glomerular se explica:

\* Que se trate de un defecto en la sulfatación de los proteoglicanos de la membrana. Pudiera existir una distribución gaussiana del grado de sulfatación de los proteoglicanos, como expresión de una heterogeneidad enzimática del metabolismo de los proteoglicanos, lo que explicaría una predisposición en una parte de la población diabética a sufrir nefropatía.

\* Otra explicación sería que, además de lo anteriormente señalado, se añada una glicación del colágeno de la membrana basal glomerular que produjese alteraciones estructurales proteicas con cambios de carga eléctrica neta de superficie, lo cual explicaría la tendencia a iniciarse una nefropatía generalmente leve y fácilmente controlable con un buen seguimiento o bien la tendencia a agravarse una nefropatía diabética generalmente más severa, si ya existe una predisposición a ello<sup>77</sup>. Cualquiera de los dos mecanismos, o ambos a la vez, podrían explicar esta alteración en la selectividad de la carga que desencadenaría el inicio y/o progresión de la enfermedad.

### 3.3 Hipertensión.

La hipertensión no parece ser una condición previa necesaria para la enfermedad renal diabética. Sin embargo, la gran mayoría de los pacientes diabéticos que evolucionan hacia la insuficiencia renal desarrollan en última instancia una hipertensión<sup>18</sup>.

Algunos autores sugieren que dicha hipertensión sería una manifestación relativamente tardía de la nefropatía diabética y que por lo tanto refleja un mecanismo similar al de la hipertensión asociada con la enfermedad renal terminal en general<sup>78</sup>.

Estudios de Parving y cols.<sup>79</sup> compararon 60 diabéticos tipo I que presentaban proteinuria con 20 sin proteinuria, de igual sexo, edad, peso corporal y duración de la diabetes. Han comprobado que en el grupo de la proteinuria padecían un aumento de la presión arterial respecto al otro grupo. Las elevaciones de la presión arterial pueden preceder a la proteinuria al igual que la reducción importante del índice de filtración glomerular<sup>39</sup>.

Los mecanismos responsables de la hipertensión en el diabético no han sido claramente definidos<sup>80</sup>.

Obviamente, los pacientes diabéticos pueden desarrollar una hipertensión arterial esencial. Sin embargo se han sugerido diferentes mecanismos específicamente relacionados con la diabetes que podrían aumentar las probabilidades de hipertensión en dicha condición.

### 3.3.1. Expansión de volumen.

La expansión de volumen plasmático y extracelular es considerada como consecuencia:

- Elevación del nivel de glucosa extracelular en el diabético, que actúa como una fuerza osmótica que redistribuye el líquido desplazándolo desde el compartimiento intracelular hasta el extracelular, lo que incrementa la cantidad de líquido extracelular incluyendo el volumen plasmático.
- El aumento del volumen plasmático podría actuar como estímulo temprano para incrementar el volumen minuto cardíaco lo que se reflejaría en una hipertensión sostenida<sup>81</sup>.

### 3.3.2. Aumento de la reabsorción renal de sodio.

Como consecuencia de la presencia de niveles más elevados de glucosa el diabético podría tener un aumento de la reabsorción tubular proximal de sodio impulsado por el contraste de glucosa y sodio a dicho nivel<sup>82,83</sup>. Además, la provisión de insulina puede estimular la reabsorción de sodio<sup>84,85</sup>.

Por tanto los pulsos exógenos de insulina recibidos en la diabetes mellitus tipo I y las elevaciones de los niveles endógenos de insulina en la diabetes mellitus tipo II podrían determinar un incremento de la reabsorción de sodio, lo que se asociaría a una expansión adicional del volumen y en última instancia con el desarrollo de hipertensión sistémica<sup>86</sup>.

Además en esta fase de la enfermedad renal se ha comprobado un incremento de la actividad del sistema renina-angiotensina, debido a un aumento de su actividad tisular y una mayor sensibilidad de la angiotensina II<sup>87</sup>, lo que condiciona que se favorezca la retención tubular de sodio y agua.

### 3.3.3. Enfermedad renal terminal.

Esta predispone al desarrollo de hipertensión debido a la tendencia a una expansión de volumen aún mayor que en los casos anteriores. Esta "hipertensión dependiente del volumen" representa el mecanismo convencional aceptado para explicar la elevación de la presión arterial en pacientes con enfermedad renal provocada por diversas causas<sup>88</sup>.

## 4. HISTORIA NATURAL.

Las alteraciones crónicas de la microcirculación renal son responsables de índices muy elevados de morbilidad y de mortalidad, particularmente en pacientes que desarrollan diabetes en la infancia o en la juventud. Se estima que hasta el 50% de estos desarrollarán una insuficiencia renal después de transcurridos 10 a 30 años de enfermedad diabética y es la causa más común de muerte de estos pacientes.

La enfermedad renal también se asocia a la diabetes de instauración en el adulto, si bien en este caso existen otras complicaciones sistémicas que predominan<sup>89,90</sup>.

Actualmente el curso de la nefropatía diabética en la diabetes mellitus tipo I está bien definido y puede definirse en etapas en función de los hallazgos clínicos-biológicos, con todas las matizaciones que esto comporta<sup>91</sup>.

Existen múltiples clasificaciones posibles atendiendo a distintos datos clínicos y bioquímicos<sup>49,92,93</sup>. El sistema de clasificación propuesto por Mogensen<sup>94</sup> debe seguir los siguientes criterios:

- 1.- Que indique la capacidad pronóstica en cuanto a la progresión de la enfermedad.
- 2.- Debe tener relevancia fisiológica evidente.
- 3.- Es importante una relación de anomalías histológicas y ultraestructurales del riñón.
- 4.- El sistema debe tener relación con otras anomalías vasculares características de la enfermedad o de sus complicaciones.
- 5.- Y lo más importante, clínicamente el sistema debe estar orientado hacia la acción, o sea, que las decisiones clínicas pueden basarse en la clasificación del paciente individual.

La clasificación de Mogensen<sup>94</sup> destinada a pacientes con diabetes mellitus tipo I distingue 5 etapas:

#### **ETAPA I: HIPERTROFIA E HIPERFILTRACIÓN GLOMERULAR.**

La hiperfiltración glomerular y la nefromegalia coexisten en el inicio de la diabetes, pero son reversibles con el tratamiento insulínico adecuado en semanas o meses<sup>95</sup>. Es posible que exista una relación entre hiperfiltración glomerular, tamaño renal y grado de control metabólico. El índice de filtración glomerular puede caer si los pacientes presentan cetoacidosis y deshidratación considerables.

#### **ETAPA II: LESIONES CON EXCRECIÓN URINARIA DE ALBÚMINA NORMAL.**

Se caracteriza por normoalbuminuria independiente de la duración de la diabetes. La hiperfiltración glomerular en diabéticos de corta duración puede relacionarse con el desarrollo de la nefropatía diabética, pero cuando la filtración glomerular es superior a 150 ml/min. el riesgo aumenta considerablemente<sup>96</sup>.

No se dispone de estudios prospectivos con suficiente número de pacientes con hiperfiltración glomerular y normoalbuminuria para poder definir exactamente esta etapa. Sin embargo, tanto el mal control glucémico como la hiperfiltración glomerular son necesarias para que se desarrolle la nefropatía diabética. En este contexto, el grado de susceptibilidad podría desempeñar un papel importante en el paciente individual.

#### **ETAPA III: NEFROPATÍA DIABÉTICA CON MICROALBUMINURIA.**

Estos pacientes presentan una lesión estructural considerable y visible al microscopio<sup>97</sup>, pero el grado de filtración glomerular está todavía conservado y hasta puede ser normal.

Los pacientes con eliminación urinaria de albúmina entre 20 y 70 mg/min. presentan índice de filtración glomerular aumentado y un nivel de filtrado glomerular más alto que los pacientes que tienen valores de albúmina entre 70 y 200 mg/min., que sugiere que la filtración glomerular empieza a declinar durante la etapa incipiente de la nefropatía.

La hiperfiltración temprana junto a la microalbuminuria (valores de excreción de albúmina urinaria entre 20 y 200 mg/min.) están relacionados con el desarrollo subsidiario de nefropatía tardía, como lo ha demostrado Mogensen y Christiansen<sup>39</sup>. Así pues, la hiperfiltración podría participar en la patogenia de la nefropatía diabética en pacientes con microalbuminuria persistente. Pero no se puede excluir el control metabólico crónicamente insuficiente, como la causa primordial de la elevada filtración glomerular<sup>49</sup>.

La microalbuminuria predice la nefropatía diabética, ya que el 80% de los pacientes la desarrollan si no se interviene adecuadamente. Estos pacientes tienen una tensión arterial más elevada que los normoalbuminúricos, aunque se sitúe dentro de la normalidad<sup>18</sup>. Existe una correlación significativa entre tensión arterial y aumento de la excreción urinaria de albúmina.

En esta etapa de la nefropatía diabética la progresión de la enfermedad renal está relacionada con la elevación de la tensión arterial y con el grado de trastorno metabólico. El control metabólico eficaz, el tratamiento con inhibidores de la ECA y dietas hipoproteicas reducen la microalbuminuria. La microalbuminuria se acompaña de retinopatía avanzada, neuropatía, perfiles de lípidos desfavorables, control glucémico más deficiente y daño renal más avanzado, aunque la función renal esté todavía conservada.

#### ETAPA IV: NEFROPATÍA DIABÉTICA MANIFIESTA.

Se caracteriza por proteinuria persistente en diabéticos de más de 10 años de evolución con retinopatía asociada y ausencia de otras enfermedades renales de origen no diabético, como glomerulonefritis o infección urinaria.

Al principio de esta fase la filtración glomerular es normal o alta con creatinina sérica normal. Con el tiempo si no se interviene se va deteriorando a razón de 1 ml./min./mes, según Mogensen.

Esta caída de filtración glomerular se correlaciona con el grado de oclusión glomerular y con el engrosamiento de la membrana basal<sup>18,98</sup>.

La hipertensión arterial es frecuente en la nefropatía diabética establecida y aumenta al tiempo que declina la filtración glomerular<sup>39</sup>. Es una hipertensión con renina baja y su control estricto es fundamental para evitar la progresión de la nefropatía diabética.

La proteinuria es creciente y cuando se superan los 3 gr./día aparece el síndrome nefrótico con hipoalbuminemia, edemas e hiperlipemia. La evolución hacia la nefropatía terminal va a depender en los distintos pacientes de una serie de factores y hallazgos bioquímicos.

Jones y cols.<sup>99</sup> han relacionado la rapidez de evolución de la nefropatía diabética con la inversa de la creatinina sérica o con el logaritmo de la creatinina sérica en relación al tiempo.

También se intentó relacionar, aunque sin éxito, el índice de progresión de la enfermedad con la edad en el momento del diagnóstico de la diabetes, con la duración de la diabetes, la presencia de hipertensión arterial, etc<sup>69,100</sup>. Sin embargo Hasslacher y cols.<sup>101</sup> sí han observado que la progresión de la enfermedad renal diabética establecida se correlaciona con el nivel de presión sanguínea, los diabéticos con hipertensión se asocian con un intervalo más corto entre la instalación de una proteinuria persistente y la

elevación de los niveles séricos de creatinina en relación a los observados en los diabéticos normotensos. Como ha señalado Viberti<sup>102</sup>, la dificultad para hallar una correlación positiva entre la presión sanguínea y el índice de progresión de la insuficiencia renal en algunos estudios realizados podría ser la consecuencia del criterio generalizado de instaurar un tratamiento temprano, de la hipertensión por moderada que ella sea en estos pacientes.

El tiempo transcurrido entre la consolidación de la proteinuria y la declinación del índice de filtración glomerular clínicamente detectable, es variable. En estudios antiguos realizados antes del advenimiento de la diálisis y el trasplante como tratamiento generalizado de la nefropatía diabética terminal, indican que transcurrían como promedio 4 a 5 años entre la detección de la proteinuria y la muerte del paciente como consecuencia de la uremia. Knowles registró un índice de mortalidad del 81% 11 años después de la aparición de la proteinuria persistente.

Por lo tanto, el intervalo transcurrido entre la instauración de la proteinuria fija y el desarrollo de una insuficiencia renal establecida puede variar entre varios meses y décadas, pero la duración promedio de este periodo en la evolución de la enfermedad renal diabética parece ser de aproximadamente cinco años.

#### ETAPA V: FRACASO RENAL TERMINAL.

Se caracteriza por una caída del filtrado glomerular, hipertensión arterial con renina baja, disminución de la proteinuria y deterioro progresivo de la función renal hasta la insuficiencia renal terminal. Histológicamente puede existir glomerulosclerosis nodular, difusa o exudativa, que desembocan en la hialinosis. El síndrome nefrótico es frecuente en este estadio.

La insuficiencia renal terminal aparece generalmente a los 20-25 años de diabetes y, como hemos señalado anteriormente, cinco años después del inicio de la proteinuria persistente. Durante este tiempo se desarrollan y progresan otras complicaciones crónicas.

Legrain<sup>103</sup> observa que en 105 diabéticos que iniciaron tratamiento de sustitución renal con una edad media de 45 años, casi todos presentan retinopatía e hipertensión, el 75% tenían neuropatía periférica clínica, el 50% arteriopatía periférica y el 33% infarto de miocardio previo.

Respecto a la neuropatía periférica es difícil distinguir si se debe a la diabetes o a la uremia; en ocasiones sólo se diferencia después de la diálisis o del trasplante<sup>104</sup>. La nefropatía autónoma está presente en el 95% de estos pacientes y en ellos los síntomas de uremia se manifiestan precozmente.

Además en este periodo podemos encontrar anemia, alteraciones de la coagulación, que pueden condicionar la aparición de hemorragias, hipercalcemia, hipoaldosteronismo-hiporreninémico, osteodistrofia renal condicionada por el déficit de vitamina D e hiperparatiroidismo secundario y disminución de la necesidad de insulina (menor degradación renal).

Conforme se va degradando la función renal, aparecen los síntomas típicos de la uremia: letargo, náuseas, vómitos, prurito, disnea por acidosis, edema y en ocasiones convulsiones y coma. También puede desarrollarse pericarditis fibrinosa, disfunción miocárdica y sobrecarga de líquidos<sup>104</sup>.

## BIBLIOGRAFIA.

1. Don BR, Schambelan M. Diabetes, dietary protein and glomerular hyperfiltration. *West. J. Med.* 1987; 147: 449-455.
2. Mogensen CE. Kidney function and glomerular permeability to macromolecules in early juvenile diabetes. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1971; 28: 91-99.
3. Mogensen CE, Andersen MJF. Increased kidney size and glomerular filtration rate in early juvenile diabetes. *Diabetes.* 1973; 22: 706-709.
4. Sandahl-Christiansen J, Gammelgaard J, Frandsen M, et al. Increased kidney size glomerular filtration rate and renal plasma flow in short-term insulin-dependent diabetics. *Diabetologia.* 1981; 20: 451-457.
5. Mogensen CE. Glomerular filtration rate and renal plasma flow in normal and diabetic man during elevation of blood sugar levels. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1971; 28: 177-181.
6. Sandahl-Christiansen F, Frandsen M, Parving HH. The effect of intravenous insulin infusion of kidney function in insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia.* 1981; 20: 199-203.
7. Altura BM, Halevy S, Turlapaty PDMV. Vascular smooth muscle in diabetes and its influence on the reactivity of blood vessels. *Adv. Microcir.* 1979; 8: 118.
8. Jeremy JY, Mikhailidis DP, Dandona P. Simulation the diabetic environment modifies in vitro prostacyclin synthesis. *Diabetes.* 1983; 32: 217-222.
9. Koch-Jensen P, Steven K, Sandahl-Christiansen J, et al. The effect of indomethacin on glomerular hemodynamics in experimental diabetes. *Clin. Res.* 1983; 31: 431.
10. Schambelan M, Blake S, Nirex MP, et al. Prostaglandin production in increased in glomeruli isolated from rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Clin. Res.* 1983; 31: 440.
11. Vázquez JJ, García AM. Relation of kidney function in early juvenile diabetes. *Diabetologia.* 1981; 21: 363.
12. Nyberg G, Granerus G, Aurell M. Renal extraction ratios for <sup>51</sup>Cr-EDTA, PAH and glucose in early insulin-dependent diabetics patients. *Kidney Int.* 1982; 21: 706.
13. Kroustrup JP, Gundersen KJG, Osterby R. Glomerular size and structure in diabetes mellitus. *Diabetologia.* 1977; 13: 207-211.
14. Osterby R, Gundersen HJG. Fast accumulation of basement membrane material and the rate of morphological changes in acute experimental diabetic glomerular hypertrophy. *Diabetologia.* 1980; 18: 493-497.
15. Jirose K, Tsuchida H, Osterby R, et al. A strong correlation between glomerular filtration rate and filtration surface in diabetic kidney hyperfunction. *Lab. Investigation.* 1980; 43: 434-439.
16. Koch-Jensen P, Christiansen JS, Stevens K, et al. Renal function in diabetics rats. *Acta Endocrinol.* 1981; 97 (suppl 242): 25-53.
17. Gartner K. Glomerular hyperfiltration during the onset of diabetes mellitus in two strains of diabetic mice. *Diabetologia.* 1978; 2: 12-15.
18. Ireland JT, Grefell A. Nefropatía diabética. En: Besser GM, Godansky HJ, Cudword AG (eds) *Diabetes Clínica II.* Barcelona: Ancora. 1990: 1-18.

19. **Viberti GC, Pickup JC, Jarrett RJ et al.** Effect of control of blood glucose on urinary excretion of albumin and B<sub>2</sub>-microglobulin in insulin-dependent diabetes. *N. Engl. J. Med.* 1979; 300: 638-641.
20. **Vittinghus E, Mogensen CE.** Graded exercise and protein excretion in diabetic man and the effect of insulin treatment. *Kidney Int.* 1982; 21: 775-777.
21. **Viberti GC.** Early functional and morphological changes in diabetic nephropathy. *Clin. Nephrol.* 1979; 12: 47-53.
22. **Deen WM, Salvat B.** Determinants of the glomerular filtration of proteins. *Am. J. Physic.* 1981; 214: 162-170.
23. **Myers BD, Winetx JA, Chui F et al.** Mechanism of proteinuria in diabetic nephropathy: A study of glomerular barrier function. *Kidney Int.* 1982; 21: 633-639.
24. **Brenner BM, Hostetter TH, Humes HD.** Molecular basis of proteinuria of glomerular origin. *N. Engl. J. Med.* 1978; 298: 826-833.
25. **Brenner BM, Bohrer MP, Baylis C et al.** Determinants of glomerular permselectivity: Insights derived from observations in vivo. *Kidney Int.* 1977; 12: 229-232.
26. **Wesson LG.,** Physiology of the human kidney. Grue & Stratton, New York. 1969.
27. **Viberti GC, Wiseman MJ.** The kidney in diabetes: significance of the early abnormalities. *Clin. Endocrinol. Metab.* 1986; 15: 753-782.
28. **Mogensen CE.** Maximun tubular reabsorption capacity for glucose and renal hemodynamics during rapid hypertonic glucosa in normal and diabetic subjects. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1971; 28: 101-104.
29. **Carney SL, Wong NLM, Dirks JH.** Acute effects of streptozotocin diabetes on rat renal function. *J. Clin. Lab. Med.* 1979; 93: 950-955.
30. **Gatling W.** What is microproteinuria?. *Pract. Diabets.* 1985; 2: 1719.
31. **Parving HH.** Impact of blood pressure and antihypertensive treatment on incipient and overt nepropathy, retinopathy and endothelial permeability in diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 1991; 4: 260-269.
32. **Perelstein EM, Grunfield BG, Simsolo Rb et al.** Renal functional reserve compared in haemolytic uraemic and single. *Arch. Dis. Child.* 1990; 62: 728-731.
33. **Oren S, Vishoper JR, Ilan S et al.** Urinary albumin excretin in patients with familial Mediterranean fever: a pilot study. *Am. J. Med. Sci.* 1991; 30: 375-378.
34. **Chen YT.** Type I glycogen storage disease: kidney involvement pathogenesis and its treatment. *Pediatr. Nephrol.* 1991; 5 (suppl 1): 71-76.
35. **Mwankwo MU, Bunker CH, Ukoli FA et al.** Blood pressure and other cardiovascular disease risk factors in black adults with sickle cell trait on glucosaphosphate dehydrogenase deficiency. *Genet. Epidemiol.* 1990; 7: 21-26.
36. **Mykkanen L, Steven M, Haffner J et al.** Microalbuminuria precedes the development of NIDDM. *Diabetes.* 1990; 39: 235 - 239.
37. **Haffner SM, González C, Valdez RA, et al.** Is microalbuminuria part of the prediabetic state?. *Diabetologia.* 1993; 36: 1002-1006.
38. **Nelson RG, Kunzelman CL, Pettit DJ, et al.** Albuminuria en type II (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in Pima indians. *Diabetologia.* 1989; 32: 870-876.
39. **Mogensen CE, Christiansen CK.** Predicting diabetic nephropathy in insulin-dependent patients. *N. Engl. J. Med.* 1984; 311: 89-93.

40. **Tsakanabdrus C, Terri J, Richard E, et al.** Progressive decline in renal function in diabetic patients with and without albuminuria. *Diabetes*. 1994; 43: 649-655.
41. **Mogensen CE, Hansen KW, Osterby R, et al.** Blood pressure elevation versus abnormal albuminuria in the genesis and the prediction of renal disease in diabetes. *Diabetes Care*. 1992; 12: 1192-1204.
42. **Abbot KC, Sanders LR, Backria GL.** Microalbuminurua in non-insulin-dependent diabetes mellitus. Implications for renal survival. *Arch. Intern. Med.* 1994; 24: 146-153.
43. **First de Sloane MR, Pesce AJ, Pollack VE.** Albumin excretion by the kidney. The effects of volume expansion. *J. Lab. Clin. Med.* 1977; 89: 25-29.
44. **Parving HH, Viberti GC, Keen H, et al.** Haemodynamic factors in the genesis of diabetic microangiopathy. *Diabete Metab.* 1983; 32: 943-949.
45. **Norgaard K, Jensen T, Feldt-Rasmussen B.** Transcapillary escape rate of albumin in hypertensive patients with type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1993; 36: 57-61.
46. **Decker T, Feldt-Rasmussen B, Mathiesen BR, et al.** Pathogenesis of incipient nephropathy a hypothesis. *Diab. Nephropathy*. 1984; 3: 83-88.
47. **Viberti GC, Jarret RJ, McCartney M, et al.** Increased glomerular permeability to albumin induced by exercise in diabetic subjects. *Diabetologia*. 1978; 14: 293-300.
48. **Viberti GC, Keen H.** The patterns of proteinuria in diabetes mellitus. *Diabetes*. 1984; 73: 686-692.
49. **Mogensen CE.** Microalbuminuria as predictor of clinical diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 1987; 31: 673-689.
50. **Chesham J, Anderton SW, Kingdon CFM.** Rapid competitive enzyme immunoassay for albumin in urine. *Clin. Chem.* 1986; 32: 669-704.
51. **Dezier JF, Calen P.** Evaluation d'un test qualitatif pour la mise evidence d'une microlabuminurie. *Pathol. Biol.* 1989; 37: 77-80.
52. **Massoubre C, Orsonnedu JL, Massoubre B, et al.** Microalbuminurie: evaluation d'une methode immunoturbidimetrique et d'une methode immunonephelmetrique. *Ann. Biol. Clin.* 1989; 47: 391-395.
53. **Phillipou G, James SK, Seaborn CJ, et al.** Screanning for microalbuminuria by use of a rapid, low-cost colometric assay. *Clin. Chem.* 1989; 35: 456-458.
54. **Sawicki Pt, Heneman L, Berger M.** Comparison of methods for microalbuminuria in diabetic patients. *Diabetic. Med.* 1989; 65: 412-415.
55. **Tai J, Tzae WJ.** Evaluation of Micro-Bumintest reagent tablest for screening of microalbuminuria. *Diabetes. Res. Clin. Pract.* 1990; 9: 137-142.
56. **Watts GF, Hodgson B, Morris RW, et al.** Side-room test to screen for microalbuminuria in diabetes mellitus. *Diabetic. Med.* 1988; 5: 298-303.
57. **Mattcok MB, Morris NJ, Viberti GC, et al.** Prospective study of microalbuminuria as predictor of mortality in NIDDM. *Diabetes*. 1992; 41: 735-741.
58. **Mathiesen ER, Hommel E, Giese J, et al.** Efficacy of captopril in postponing nephropathy in normotensive insulin-dependent diabetic patients with microalbuminuria. *Br. Med. J.* 1991; 303: 81-87.
59. **Borch-Johnsen K.** Epidemiology of microangiopathy in type I diabetes mellitus. *Diabete Metab.* 1993; 19: 133-137.

60. **Borch-Johnsen K, Wenzel H, Viberti CG, et al.** Is screening and intervention for albuminuria worthwhile in patients with insulin-dependent diabetes?. *Br. Med. J.* 1993; 307: 543.
61. **Grenfell A, Watkins PJ.** Clinical diabetic nephropathy natural history and complications. *Clin. Endocrinol. Metab.* 1986; 15: 783-805.
62. **Venkatechalm MA, Rennke HG.** The structural and molecular basis of glomerular filtration. *Circ. Rev.* 1978; 43: 337-347.
63. **Winetz JA, Golbetz HV, Spencer RJ, et al.** Glomerular function in advanced human diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 1982; 21: 750-752.
64. **Gundersen KJG, Osterby R.** Glomerular size and structure in diabetes mellitus I. Late abnormalities. *Diabetologia.* 1976; 13: 43-46.
65. **Mauer SM, Steffes MW, Brown DM.** The kidney in diabetes. *Am. J. Med.* 1981; 70: 603-606.
66. **Goldstein HH.** The problem of end-stage diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 1974; 6 (suppl 1): 21-23.
67. **Mauer SM, Steffes MW, Ellis EN, et al.** Structural-functional relationship in diabetic nephropathy. *J. Clin. Invest.* 1984; 74: 1143-1155.
68. **Deckert T, Grenfell.** Epidemiology and natural history of diabetes-nephropathy. En: *Pickup J Textbook of Diabetes Blackwell Sci. Publ.* 1991: 651-657.
69. **Mogensen CE.** Progression of nephropathy in long-term diabetes with proteinuria and affect of initial a antihypertensive treatment. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1976; 36: 383-387.
70. **Farquhar MG.** The glomerular basement membrane: a selective macromolecular filter. In *Hay. De. De. Cell Biology of Extracellular matrix.* New York, NY: Plenum Press. 1982: 335-378.
71. **Klahrs S, Buerkert J, Purkerson ML.** Role of directory factors in the progression of chronic renal disease. *Kidney Int.* 1983; 24: 579-583.
72. **Cohen AH, Mampaso F, Zamponi L.** Glomerular podocyte degeneration in human renal disease. An ultrastructural study. *Lab. Invest.* 1977; 37: 40-45.
73. **Kverneland A, Feldt-Rasmussen B, Vidal P, et al.** Evidence of changes in renal charge selectivity in patients with type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia.* 1986; 229: 634-639.
74. **Vidal P, Deckert T, Andreassen H, et al.** Loss of charge selectivity, non pore size, accompanies microalbuminuria in diabetic nephropathy. *Diabetologia.* 1992; 35 (suppl 1): 144.
75. **Deckert T, Kofoed-Enevoldsen A, Vidal P et al.** Size and charge selectivity of glomerular filtration in type I (insulin-dependent) diabetic patients with and without albuminuria. *Diabetologia.* 1993; 36: 344-251.
76. **Wahl P, Deppermann D, Hasslacher C.** Biochemistry of glomerular basement membrane of the normal and diabetic human. *Kidney Int.* 1982; 21: 744-747.
77. **Parthasarathy N, Spiro RG.** Effect of diabetes on the glycosaminoglycan component of the human glomerular basement membrane. *Diabetes.* 1982; 31: 738-742.
78. **Hsueh WA, Anderson PW.** Hypertension, the endothelial cell, and the vascular complications of diabetes mellitus. *Hypertension.* 1992; 20: 253-263.

79. Parving HH, Smidt UM, Friisberg G et al. A prospective study of glomerular filtration rate and arterial blood pressure in insulin-dependent diabetics with diabetic nephropathy. *Diabetologia*. 1981; 20: 457-462.
80. Ritz E, Hasslacher C. Genesis and treatment of hypertension in diabetes mellitus. *Diab. Nephropathy*. 1984; 3: 2-9.
81. Axelrod L. Response of congestive heart failure to correction of hyperglucemia in the presence of diabetic nephropathy. *N. Engl. J. Med.* 1975; 293: 1243-1246.
82. Kokko JP. Proximal tubule potential difference. Dependence on glucosa HCO<sub>3</sub>, and amino acids. *J. Clin. Invest.* 1973; 52: 1362.
83. Ullrich KJ, Rumrich G, Kloss G. Specificity and sodium dependence of the active sugar transport in the proximal convolution of the rat kidney. *Pfluegers Arch.* 1974; 351: 35-38.
84. De Fronzo RA. The effect on insulin on renal sodium metabolism. *Diabetologia*. 1981; 21: 165-169.
85. Ditzel J, Lervang HH, Mortensen JB, et al. Renal sodium metabolism in relation to hypertension in diabetes. *Diabete Metab.* 1989; 15: 292-295.
86. Nosadini R, Fioretto P, Giorato C, et al. Sodium metabolism in insulin-dependent diabetic patients. *Diabete Metab.* 1989; 15: 301-305.
87. Hsueh WA, Anderson PW. Systemic hypertension and the renin-angiotensin system in diabetic vascular complications. *Am. J. Cardiol.* 1993; 72: 14-21.
88. Rose BD. Pathophysiology of uremia. En *Pathophysiology of Renal Disease*. McGraw-Hill. New York. 1981; 445-459.
89. García-Mayor R, Moreiras M, Batista J, et al. Prevalencia de nefropatía diabética e insuficiencia renal en diabéticos tipo II. *Av. Diabetol.* 1991; 4: 73-77.
90. Tung P, Levin S. Nephropathy in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am. J. Med.* 1988; 86 (suppl 5): 131-136.
91. Esmatjes E, Gutiérrez A, Goday A, et al. Historia natural de la nefropatía en la diabetes mellitus tipo I. *Med. Clin.* 1988; 90: 47-49.
92. Mogensen CE. Hypertension in diabetes and the stages of diabetic nephropathy. *Diab. Nephropathy*. 1982; 1: 2-7.
93. Mogensen CE. *The kidney and hypertension in Diabetes Mellitus*. Boston, Martinus Nijhoff Publishing. 1988.
94. Mogensen CE, Christiansen CK, Vittinghus E et al. The stages in diabetic renal disease. With emphasis on the stage of incipient nephropathy. *Diabetes*. 1983; 32(suppl 2): 64-78.
95. Christiansen JS, Frandsen N, Sredensen PA, et al. Rapid changes in kidney function in diabetic and normal man. *Acta Endocrinol.* 1981; 242: 11-21.
96. Mogensen CE. Early glomerular hyperfiltration in insulin-dependent diabetics and late nephropathy. *Scan. J. Clin. Lab. Invest.* 1986; 46: 201-206.
97. Coppo R, Amore A, Roccatello D, et al. A solid phase enzyme immunoassay for the measurement of urinary albumin and the detection of microalbuminuria. *J. Diabetic. Complications*. 1987; 1: 58-67.
98. Kussam MJ, Goldstein MM, Gleason RE. The clinical course of diabetic nephropathy. *JAMA*. 1976; 236: 1861-1863.
99. Jones RH, Hayakawa H, McKay JD, et al. Progression of diabetic nephropathy. *Lancet*. 1979; 2: 1105.

100. **Viberti GC, Biolus RW, Mackintosh D, et al.** Monitoring glomerular function in diabetic nephropathy. *Am. J. Med.* 1983; 74: 256-261.
101. **Hasslacher C, Stech W, Wahl P, et al.** Normal history of nephropathy in type I diabetes-roles of metabolic control and hypertension. *Ann. Mtg. Am. Soc. Nephrol.* 1983; 29.
102. **Viberti GC, Mogensen CE, Groop LC, et al.** Effect of captopril on progression to clinical proteinuria in patients with insulin-dependent diabetes mellitus and microalbuminuria. *JAMA.* 1994; 271: 275-279.
103. **Legrain M, Rottembourg J, Bentschikow A, et al.** Dialysis treatment of insulin dependent diabetic patients. *Clin. Nephrol.* 1984; 21: 72-76.
104. **D'Elia JA, Kaldani A, Millaer DG, et al.** Nefropatía diabética. En: Marble A. Krall P, Bradley RF, Christiev AR, Soelner JS, eds *Joslin diabetes mellitus.* XII ed Buenos Aires: Intermédica. Buenos Aires, Argentina. 1990; 30: 613-640.

## CAPITULO 4

# ALTERACIONES DE LA MEMBRANA BASAL GLOMERULAR EN LA DIABETES MELLITUS.

Las membranas basales (MB) son estructuras extracelulares que separan las células parenquimatosas del espacio intersticial. Desempeñan un papel fundamental como soporte estructural y barrera semipermeable, interviniendo además en los procesos de anclaje, migración y diferenciación celular<sup>1,2</sup>.

El engrosamiento de la membrana basal glomerular (MBG) es uno de los hallazgos anatomopatológicos más característicos y precoz de la microangiopatía diabética.

### A) Alteraciones estructurales y químicas.

El engrosamiento de la MB de los capilares de los pacientes diabéticos ha sido demostrado en diferentes tejidos como el riñón, retina, coroides, nervios periféricos, cerebro, piel y músculo estriado<sup>3,4,5,6,7</sup>. Las características del engrosamiento de las membranas basales varía de unos tejidos a otros y son diferentes los factores que pueden influir, desde la variabilidad anatómica (siendo más espectacular en músculo, riñón y retina), a la edad del paciente y sobre todo, al tiempo de evolución de la diabetes.

En el riñón el engrosamiento de la MBG es más temprano en las regiones más cercanas al mesangio<sup>8</sup>. También se ha observado que esta alteración es más frecuente en diabéticos de edad avanzada y sobre todo en varones<sup>9</sup>.

La mayoría de los autores están de acuerdo en que estas alteraciones estructurales aparecen transcurrido algún tiempo desde el inicio de la enfermedad. En la diabetes tipo I a partir de los 2 ó 3 años ya hay modificaciones en las membranas basales<sup>7</sup>.

Se han publicado numerosos trabajos sobre las alteraciones de la MB en los riñones de los pacientes con diabetes mellitus. La mayoría coinciden en la existencia de una disminución inicial de los glucosaminoglicanos y posteriormente un incremento del colágeno tipo IV. En relación a los cambios en la composición de laminina y fibronectina los autores ya no están de acuerdo<sup>10,11,12,13,14</sup>. Las diferencias entre los distintos trabajos podrían deberse, en parte, a la dificultad de solubilizar los distintos componentes de la MBG y el uso de diferentes técnicas para proceder a un análisis cuantitativo<sup>15</sup>.

Además se pueden explicar estas discrepancias al tener en cuenta que la nefropatía diabética es un proceso dinámico con diferentes grados de afectación. En la tabla 1 exponemos las variaciones de la composición de la MBG dependiendo del tipo y grado de nefropatía.

**TABLA I**  
**COMPOSICION DE LA MATRIZ INTERSTICIAL GLOMERULAR**  
**EN LA NEFROPATIA DIABETICA (KIM ET AL<sup>16</sup>)**

	<i>Esclerosis glomerular difusa</i>		<i>Esclerosis glomerular nodular</i>	
	<i>Precoz</i>	<i>Tardía</i>	<i>Precoz</i>	<i>Tardía</i>
<i>Laminina</i>	<i>incremento moderado</i>	<i>incremento moderado</i>	<i>incremento moderado</i>	<i>descenso</i>
<i>Fibronectina</i>	<i>incremento moderado</i>	<i>incremento moderado</i>	<i>incremento moderado</i>	<i>descenso</i>
<i>Colágeno IV (<math>\alpha_1\alpha_2</math>)</i>	<i>incremento moderado</i>	<i>incremento importante</i>	<i>incremento importante</i>	<i>descenso</i>
<i>Colágeno IV (<math>\alpha_3\alpha_4</math>)</i>	<i>sin cambios</i>	<i>descenso</i>	<i>descenso</i>	<i>descenso</i>
<i>Colágeno III</i>	<i>ausente</i>	<i>presente</i>	<i>presente</i>	<i>aumentado</i>
<i>Proteoglicanos (heparán sulfato)</i>	<i>sin cambios</i>	<i>descenso importante</i>	<i>descenso moderado</i>	<i>descenso importante</i>

### B) Mecanismos patogénicos.

Los mecanismos desencadenantes de las alteraciones estructurales antes descritas son desconocidos. No obstante se conoce que juegan algún papel importante la hiperglucemia, la insulina, la disfunción endotelial, algunos factores genéticos y factores hemodinámicos.

El efecto directo de las concentraciones elevadas de glucosa sobre el incremento del colágeno IV es un hecho demostrado en estudios experimentales<sup>17</sup>. La glucosa ejerce sus efectos a través de los cambios en el metabolismo celular.

Se ha demostrado que las concentraciones elevadas de glucosa producen un incremento del Transforming Growth Factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) en los cultivos de células mesangiales, o la activación de la proteincinasa C<sup>18,19</sup>.

Un segundo mecanismo podría ser la exagerada formación de sorbitol a partir de la glucosa y NADPH. Esta reacción catalizada por la aldolasa reductasa es capaz de lesionar las células al disminuir la captación de mioinositol y al modificar el estado redox de la célula, gracias a la modificación del cociente NADPH/NAD<sup>+</sup><sup>20</sup>. Por este motivo los inhibidores de la aldolasa reductasa son capaces de frenar el incremento de la síntesis de proteínas en la MBG<sup>21</sup>.

Por último también pueden estar implicados los productos finales de la glucación avanzada (advanced glycosylation endproducts) [AGE], formando enlaces cruzados en proteínas extracelulares, disminución de la afinidad a los proteínoglicanos, estimulando la proliferación celular o favoreciendo las roturas de ADN<sup>22,23</sup>.

BROWNLEE y cols<sup>22</sup> han sugerido que la formación de AGE en la matriz intersticial es capaz de incrementar la permeabilidad de las proteínas plasmáticas gracias a la pérdida de proteínoglicanos y a la producción de un incremento en los espacios intermoleculares del colágeno. Además la formación de AGE en el colágeno tipo IV permite el depósito irreversible de las proteínas plasmáticas solubles en el espacio subendotelial, gracias a la formación de enlaces covalentes pudiendo así favorecer el engrosamiento de la MBG<sup>24,25</sup>.

Otro factor que puede contribuir al engrosamiento de la MBG es la disminución de su degradación enzimática, un fenómeno no atribuible en parte a la formación de AGE y sí al descenso de la actividad proteolítica de los enzimas encargados de la misma<sup>26,27</sup>.

Además del papel de la hiperglucemia en las alteraciones de la MBG existen otros factores como los niveles de insulina. Esta regula la síntesis de los diversos componentes de la matriz mesangial en determinadas circunstancias cuando se eleva la glucemia<sup>28</sup>.

Por otra parte el grosor de la membrana basal de los capilares del músculo esquelético parece correlacionarse con la presión intravascular<sup>29</sup>. En este sentido algunos estudios indican que las células cuando son sometidas a estrés tensional presentan una respuesta proliferativa e incrementan la síntesis de colágeno<sup>30,31</sup>. El incremento del depósito de proteínas plasmáticas en el espacio subendotelial, como consecuencia del incremento de la presión de filtración, podría estimular la síntesis del material de la membrana basal a través de diversos mecanismos como atrapamiento, glucación, oxidación "in situ", depósito de factores de crecimiento etc<sup>29,32</sup>.

La disfunción endotelial de los vasos del glomérulo también pueden estar implicados. La exposición del subendotelio a la trombina induce la liberación y activación de complejos formados por el factor de crecimiento de los fibroblastos<sup>33</sup>. Este fenómeno podría estar implicado en la pérdida de proteínoglicanos (heparansulfato) observado en la membrana basal de los diabéticos y en el incremento de la síntesis de otras proteínas de membrana, atribuible a la activación del FGF y TGF<sup>34,35</sup>.

Por último no hay que olvidar la variabilidad genética en la regulación de la vida enzimática frente a la hiperglucemia o en la producción y degradación de productos derivados de la glucación no enzimática<sup>36,37</sup>.

### C) Consecuencias funcionales.

El engrosamiento de la MBG con la pérdida de glucosaminoglicanos puede explicar la permeabilidad vascular observada en los pacientes diabéticos. Se han relacionado la magnitud de la proteinuria y la disminución del contenido de glucosaminoglicanos en la MBG en los estadios más avanzados de la nefropatía diabética<sup>38</sup>.

En la glomerulosclerosis avanzada se cree que la oclusión capilar es secundaria a la expansión mesangial más que al engrosamiento de la MBG<sup>7,39</sup>.

Es probable que las alteraciones cuantitativas y cualitativas de la MBG intervengan de forma indirecta en los fenómenos de oclusión capilar y de aumento de permeabilidad, a la vista de todos estos estudios realizados.

#### D) Repercusión clínica.

La mayoría de los autores no han podido demostrar una relación entre el grosor de la MBG y la gravedad de las manifestaciones de la microangiopatía diabética a nivel renal. Parece claro que la correlación entre las anomalías morfológicas y funcionales es pobre, ya que el 90% de los pacientes diabéticos tipo I presentan cierto grado de glomeruloesclerosis a los diez años de evolución, mientras que sólo el 35% presentan una proteinuria persistente y una disminución de la función renal a lo largo de su enfermedad<sup>40,41,42</sup>.

CHIVERS y cols<sup>43</sup> han encontrado una correlación positiva entre el espesor de la MBG y la gravedad de la retinopatía y OSTERBY y cols<sup>44</sup> demuestran un incremento del grosor de la MBG en los pacientes con microalbuminuria respecto a aquellos con macroalbuminuria y en estos últimos respecto a normoalbuminúricos.

Así pues, es posible que las modificaciones iniciales que se producen en la MB de los pacientes diabéticos intervengan en el desarrollo de alteraciones posteriores que conducirán a la microangiopatía clínica y repercutirán a su vez en la homeostasis de la membrana basal. Estas alteraciones dependerán sin embargo de otras variables como pueden ser la resistencia celular a los cambios microambientales, la presencia de hipertensión arterial, el tamaño y el número de glomérulos etc., que probablemente determinarán la evolución de cada paciente<sup>45</sup>.

#### E) Papel de los GAG en la membrana basal glomerular.

La membrana basal glomerular representa una barrera selectiva para la filtración a nivel glomerular. Está constituida por una red de filamentos de colágena tipo IV constituyendo una lámina densa con una interna y otra externa de diferente composición. El colágeno tipo IV lo componen unas cadenas dispuestas de forma helicoidal. Estudios inmunohistoquímicos revelan que las cadenas de colágeno tipo IV están distribuidas de forma heterogénea en el interior del glomérulo. Las cadenas  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$  se encuentran fundamentalmente en la matriz mesangial, mientras que las cadenas  $\alpha_3$  y  $\alpha_4$  se encuentran exclusivamente en la membrana basal glomerular<sup>46</sup>. Su función va a ser la de formar un andamiaje al que se van a unir otras moléculas, determinando el tamaño de poro del filtrado glomerular.

Pero la MBG también está constituida por unos polipéptidos de distintas cadenas (laminina y entactina) encargados de la adhesión de diferentes moléculas.

La MBG contiene Glucosaminoglicanos (GAG), fundamentalmente Heparán Sulfato (HS) constituido por tres cadenas unidas de forma covalente a una cadena de estructura polipeptídica<sup>47</sup>. El lado sulfatado de la cadena confiere a la molécula una carga negativa<sup>48</sup>. FARQUAR<sup>49</sup> y posteriormente BORN y cols<sup>50</sup> han demostrado que las cadenas de HS constituyen la barrera aniónica de la unidad de filtración glomerular.

Además de tener una función de filtro selectivo el HS desempeña una función antiproliferativa de la MBG y es el lugar de unión de diferentes factores humorales<sup>51-53</sup>.

La matriz mesangial, aunque morfológicamente distinta a la MBG, está constituida esencialmente por los mismos componentes (colágena IV, laminina, HS), aunque también se ha encontrado en los compartimentos glomerulares fibronectina y colágeno V. Las células de la matriz mesangial están adheridas a las células de la membrana capilar constituyendo una unidad estructural. Cambios en la composición de la matriz mesangial después de la adhesión celular pueden ocasionar migración y proliferación celular favoreciendo alteraciones en la función<sup>54</sup>.

En la diabetes mellitus es donde mejor se han estudiado las alteraciones de los GAG de la MBG. Son escasos los trabajos en pacientes con nefropatía hipertensiva.

Las alteraciones bioquímicas y ultraestructurales de la matriz extracelular glomerular son bien conocidas en la glomeruloesclerosis tanto temprana como tardía<sup>55-57</sup>. Al comienzo, entre los cambios morfológicos que aparecen, los más importantes son la expansión de la matriz mesangial y la condensación de la MBG. Es raro que al comienzo disminuya el contenido de GAG de la MBG (HS).

Estudios inmunohistoquímicos revelan que los cambios en la composición de los diferentes tipos de colágeno son los más complejos. En riñones diabéticos con lesiones tempranas (glomeruloesclerosis difusa precoz) solamente existe un mínimo incremento de los componentes de la membrana basal a excepción del HS-PG<sup>55</sup>. Durante el desarrollo de la glomeruloesclerosis difusa se produce un aumento de los componentes de la membrana basal especialmente del colágeno tipo IV, cadenas  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$  en la matriz mesangial<sup>46</sup>; permaneciendo igual las cadenas  $\alpha_3$  y  $\alpha_4$ , descendiendo el HS-PG.

Las alteraciones en la composición de la matriz extracelular en la nefropatía diabética están reguladas por una serie de factores genéticos, basados en los siguientes hechos:

1.- La incidencia de albuminuria es significativamente más alta en varones que en la mujer<sup>58</sup>.

2.- En pacientes diabéticos tipo I con larga evolución (más de 40 años) sin presentar proteinuria se han encontrado diferentes tipos de antígenos tisulares, que no se observa en los diabéticos tipo II con nefropatía<sup>59</sup>.

3.- Sin embargo la albuminuria es más frecuentemente encontrada en hermanos diabéticos de pacientes también diabéticos pero con albuminuria, que en hermanos diabéticos de pacientes sin albuminuria<sup>60</sup>. La actividad del contra-transporte  $\text{Na}^+/\text{Li}^+$  en los eritrocitos se utiliza como marcador genético en los pacientes con albuminuria.

Estudios experimentales en animales diabéticos han demostrado alteraciones en la composición y carga de la MBG alterando la barrera de filtración<sup>61-64</sup>.

La carga negativa de la MBG es particularmente debida al contenido de HS-PG<sup>53,65,66</sup>. Alteraciones de la actividad de carga glomerular pueden ser reflejo de cambios cualitativos a nivel de la MBG. Una pérdida neta de las cargas negativas a nivel de la MBG podría explicarse por un defecto parcial de la sulfatación de PG o bien por una glicación proteica aumentada del colágeno, que determinaría cambios en la estructura terciaria y cuaternaria con efecto neto sobre su carga eléctrica de superficie<sup>67</sup>.

Según las últimas investigaciones el mecanismo más precoz sería la alteración en la selectividad de carga eléctrica que ocurre antes de la alteración del tamaño del poro a nivel glomerular. Para demostrarlo DECKERT y cols<sup>68,69</sup> estudiaron el aclaramiento renal de dextranos de diferentes tamaños bien caracterizados, así como el aclaramiento de diversas moléculas como IgG<sub>4</sub> e IgG ( que teniendo el mismo tamaño molecular

tienen distinta carga eléctrica de superficie). Los resultados fueron que el índice de selectividad de carga (expresado como el índice entre el aclaramiento IgG/IgG<sub>4</sub>) estaba ya drásticamente disminuido en los primeros estadios de microalbuminuria incipiente, mientras que el aumento del tamaño del poro sólo empezó a detectarse en fases más avanzadas de franca proteinuria. Esto se interpreta como una pérdida precoz de la selectividad eléctrica de la barrera glomerular y no de la barrera tubular<sup>64,70-72</sup>.

Estas observaciones conducen a pensar que en la diabetes mellitus hay una reducción de las cargas negativas de la MBG por la alteración de sus componentes. El descenso de la carga aniónica de la MBG se debe a un descenso de uno de sus componentes: el HS-PG<sup>73</sup>. Pero en la diabetes mellitus también se ha encontrado descenso de los GAG en las células de la túnica media de la pared de la aorta<sup>74,75</sup>, mesangio<sup>73,76</sup>, membranas del epitelio vascular<sup>77</sup> y tejidos periarticulares<sup>78</sup>.

En la MBG del riñón del paciente diabético se han constatado los siguientes hechos:

- a) Descenso del HS-PG de la MBG que lleva a una disminución de la carga aniónica y favorece la albuminuria<sup>79-81</sup>.
- b) El descenso del HS de la MBG indica que el paciente presenta nefropatía<sup>82-85</sup>.
- c) El descenso del HS-PG ocasiona a nivel renal, por la similitud de efectos que posee, una disfunción vascular con complicaciones renales y extrarrenales<sup>86</sup>.

El HS-PG no sólo inhibe la filtración glomerular de albúmina, sino que también contribuye a la integridad del tamaño del poro de la MBG<sup>87,88</sup>, por lo que en la nefropatía diabética hay una alteración en la microestructura de ésta<sup>89,90</sup>.

El HS-PG tiene propiedades antitrombogénicas actuando sobre las células de la membrana endotelial. El descenso ocasiona microtrombos y agregados plaquetarios con áreas de hipoperfusión que preceden a la retinopatía diabética<sup>91,92</sup>.

El HS se une a la lipoprotein lipasa estimulando su actividad e inhibiendo la proliferación de células del músculo en las arterias. Su descenso es un factor predisponente de arteriosclerosis<sup>76,93,94</sup>.

La sulfatación de los GAG (fundamentalmente el HS) ocurre en el aparato de Golgi gracias al enzima N-deacetilasa<sup>95</sup>. En la diabetes mellitus se ha demostrado una alteración de este enzima, por lo que se puede explicar la reducción del HS con todas sus consecuencias<sup>96</sup>.

Pero la relevancia clínica de los factores de riesgo y sus mecanismos no son todavía bien conocidos. La regulación metabólica y los factores genéticos son ciertamente importantes, pero desconocemos todavía algunas piezas para completar el puzzle.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Schittny JC, Yurchenco PD. Basement membranes: molecular organization and function in development and disease. *Curr. Opin. Cell. Biol.* 1989; 1: 983-988.
2. Paulsson M. Basement membrane proteins: structure, assembly, and cellular interactions. *Cri. Rev. Biochem. Mol. Bio.* 1992; 27: 93-127.

3. **Williamson JR, Tilton RG, Chang K, Kilo C.** Basement membrane abnormalities in diabetes mellitus: relationship to clinical microangiopathy. *Diabetes Metab. Rev.* 1988; 4: 339-370.
4. **Kilo C, Volger N, Williamson JR.** Muscle capillary basement membrane changes related to aging and to diabetes mellitus. *Diabetes.* 1972; 21: 881-905.
5. **Johnson PC, Brendel K, Meezan E.** Human diabetic perineurial cell basement membrane thickening. *Lab. Invest.* 1981; 44: 265-270.
6. **Freingold KR, Browner WS, Siperstein MD.** Prospective studies of muscle capillary basement membrane with in prediabetics. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1989; 69: 784-789.
7. **Osterby R.** Glomerular structural changes in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus: causes, consequences, and prevention. *Diabetologia.* 1992; 35: 164-812.
8. **Gundersen HJG, Osterby R.** Precise quantitation of glomerular basement membrane morphology. *Renal Physiol.* 1980; 3: 303-311.
9. **Karttunen T, Risteli J, Autio-Hartmainen H, Risteli L.** Effect of age and diabetes on type IV collagen and laminin in human kidney cortex. *Kidney Int.* 1986; 30: 586-591.
10. **Rohrbach DH, Hassell JR, Kleinman HK, Martin GR.** Alterations in the basement membrane (heparan sulfate) proteoglycan in streptozotocin-induced diabetic mice. *Diabetes.* 1982; 31: 185-188.
11. **Shimomura H, Spiro RG.** Studies on macromolecular components of human glomerular basement membrane and alterations in diabetes: decreased levels of heparan sulfate proteoglycan and laminin. *Diabetes.* 1987; 36: 374-381.
12. **Ikeda S, Makino H, Haramoto T, Shikata K, Kumagai I, Ota Z.** Changes in glomerular extracellular matrices components in diabetic nephropathy. *J. Diab. Complications.* 1991; 5: 186-188.
13. **Makino H, Ikeda S, Haramoto T, Ota Z.** Heparan sulfate proteoglycans are lost in patients with diabetic nephropathy. *Nephron.* 1992; 61: 415-421.
14. **Olgemöller B, Schleicher E.** Alterations of glomerular matrix proteins in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Clin. Invest.* 1993; 71 (Supl): 13-19.
15. **Danne T.** Research methodologies in connective tissue changes. En: *Mogensen CE, Standl E, editores. Research methodologies in human diabetes.* Berlin-Nueva York: Walter de Gruyter. 1994; 417-431.
16. **Kim Y, Kleppel M, Butkowski R, Mauer M, Wieslander J, Michael A.** Differential expression of basement membrane collagen chains in diabetic nephropathy. *Am. J. Pathol.* 1991; 138: 413-420.
17. **Ayo SH, Radnik RA, Garoni JA, Glass WF II, Kreisberg JI.** High glucose causes an increase in extracellular matrix proteins in cultured mesangial cells. *Am. J. Pathol.* 1990; 136: 1339-1348.
18. **Wolf G, Sharma K, Chen Y, Ericksen M, Ziyadeh FN.** High glucose-induced proliferation in mesangial cells is reversed by autocrine TGF- $\beta$ . *Kidney Int.* 1992; 42: 647-656.
19. **Mandarino LI.** Current hypotheses for the biochemical basis of diabetic microangiopathy. *Diabetes Care.* 1992; 15: 1892-1901.

20. **Greene DA, Lattimer SA, Sima AAF.** Sorbitol, phosphoinositides, and sodium-potassium-ATPase in the pathogenesis of diabetic complications. *N. Engl. J. Med.* 1987; 316: 599-606.
21. **Sima AAF, Nathaniel V, Prashar A, Bril V, Greene DA.** Endoneurial microvessels in human diabetic neuropathy: endothelial cell dysfunction and lack of treatment effect by aldose reductase inhibitor. *Diabetes.* 1992; 41 (Supl 2): 52-56.
22. **Brownlee M.** Advanced protein glycosylation in diabetes and aging. *Anu. Rev. Med.* 1995; 46: 223-234.
23. **Bucala R, Vlassara H.** Advanced glycosylation end products in diabetic renal and vascular disease. *Am. J. Kidney Dis.* 1995; 26: 875-888.
24. **Brownlee M, Vlassara H, Cerami A.** Non-enzymatic glycosylation products on collagen covalently trap low-density lipoprotein. *Diabetes.* 1985; 34: 938-941.
25. **Sensi M, Tanzi P, Bruno RM, Mancuso M, Adriani D.** Human glomerular basement membrane: altered binding characteristics following in vitro non-enzymatic glycosylation. *Ann. NY. Acad. Sci.* 1986; 488: 549-552.
26. **Lubec G, Leban J, Peyroux J, Sternberg M, Pollak A, Lutzka M et al.** Reduced collagenolytic activity of rat kidneys with streptozotocin diabetes. *Nephron.* 1982; 30: 357-360.
27. **Knecht R, Leber R, Hasslacher C.** Degradation of glomerular basement membrane in diabetes. I. Susceptibility of diabetic and nondiabetic basement membrane to proteolytic degradation of isolated glomeruli. *Res. Exp. Med.* 1987; 187: 323-328.
28. **Abrass CK, Spicer D, Raugi GJ.** Insulin induces a change in extracellular matrix glycoproteins synthesized by rat mesangial cells in culture. *Kidney Int.* 1994; 46: 613-620.
29. **Tooke JE.** Microvascular function in human diabetes. A physiological perspective. *Diabetes.* 1995; 44: 721-725.
30. **Curtis ASG, Seehar GM.** The control of cell division by tension or diffusion. *Nature (Lond).* 1978; 274: 52-53.
31. **Stefansson E, Landers MB III, Wolbarsht ML.** Oxygenation and vasodilatation in relation to diabetic and other proliferative retinopathies. *Ophthalmic Surg.* 1983; 14: 209-226.
32. **Tooke JE, Shore AC.** The regulation of microvascular function in diabetes mellitus. En: Pickup J, Williams G, editores. *Textbook of diabetes.* Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1991; 546-553.
33. **Benezra M, Vlodavsky I, Ishai-Michaeli R, Neufeld G, Bar-Shavit R.** Thrombin-induced release of active basic fibroblast growth factor-heparan sulfate complexes from subendothelial extracellular matrix. *Blood.* 1993; 81: 3324-3331.
34. **Yue DK, McIennan SV, Turtle JR.** Pathogenesis of diabetic microangiopathy: the roles of endothelial cell and basement membrane abnormalities. *Diabet. Med.* 1992; 9: 218-220.
35. **Border WA, Noble NA.** Transforming growth factor  $\beta$  in tissue fibrosis. *N. Engl. J. Med.* 1994; 331: 1286-1292.
36. **Deckert T, Horowitz M, Kofoed-Enevoldsen A, Kjellen L, Deckert M, Lykkelund C et al.** Possible genetic defects in regulation of glycosaminoglycans in patients with diabetic nephropathy. *Diabetes.* 1991; 40: 764-770.

37. Unger E, Petterson I, Eriksson UJ, Lindahl U, Kjellen L. Decreased activity of the heparan sulfate modifying enzyme glucosaminyl N-deacetylase in hepatocytes from streptozotocin-diabetic rats. *J. Biol. Chem.* 1991; 266: 8671-8674.
38. Vernier RL, Steffes MW, Sisson-Ross S, Mauer SM. Heparan sulfate proteoglycan in the glomerular basement membrane in type I diabetes mellitus. *Kidney Int.* 1992; 41: 1070-1080.
39. Mauer SM, Steffes MW, Ellis EN, Sutherland DER, Brown DM, Goetz FC. Structural-functional relationships in diabetic nephropathy. *J. Clin. Invest.* 1984; 74: 1143-1155.
40. Chavers BM, Bilous RW, Ellis EN, Steffes MW, Mauer SM. Glomerular lesions and urinary albumin excretion in type I diabetes without overt proteinuria. *N. Engl. J. Med.* 1989; 320: 966-970.
41. Andersen AR, Christiansen JS, Andersen JK, Kreiner S, Deckert T. Diabetic nephropathy in type I (insulin-dependent) diabetes: an epidemiological study. *Diabetologia.* 1983; 25: 496-501.
42. 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.
43. Chavers BM, Mauer SM, Ramsay RC, Steffes MW. Relationships between retinal and glomerular lesions in IDDM patients. *Diabetes.* 1994; 43: 441-446.
44. Bangstad HJ, Osterby R, Dahi-Jorgensen K, Berg KJ, Hartmann A, Nyberg G et al. Early glomerulopathy is present in young type I (insulin-dependent) diabetic patients with microalbuminuria. *Diabetologia.* 1993; 36: 523-529.
45. Nielsen FS, Gall MA, Parving HH. Acquired oligonephropathy and diabetic nephropathy. *Am. J. Kidney Dis.* 1995; 26: 898-903.
46. Kim Y, Kleppel M, Butkowski R, Mauer M, et al. Differential expression of basement membrane collagen chains in diabetic nephropathy. *Am. J. Pathol.* 1991; 138: 413-20.
47. Kallunki P, Tryggvason K. Human basement membrane heparan sulfate proteoglycan core protein: a 467-KD protein containing multiple domains resembling elements of the low density lipoprotein receptor, laminin, neural cell adhesion molecules and epidermal growth factor. *J. Cell. Biol.* 1992; 116:559-571.
48. Sternberg M, Cohen-Forster L, Peyroux J. Connective tissue diabetes mellitus: biochemical alterations of the intercellular matrix with special reference to proteoglycans, collagens and basement membranes. *Diabete Metab.* 1985; 11: 27-50.
49. Farquhar MG. The glomerular basement membrane: a selective macromolecular filter. En: E. Hay (de) *Cell biology of extracellular matrix.* Plenum Press New York, London. 1981: 335-378.
50. Van den Born J, Van den Heuvel PWJ, Baker MAH, et al. A monoclonal antibody against GBM heparan sulfate induces an acute selective proteinuria in rats. *Kidney Int.* 1992; 41: 115-123.
51. Olgemöller B, Schleicher E, Nerlich A, et al. Isolation, characterization and immunological determination of basement membrane-associated heparan sulfate proteoglycan. *Biol. Chem. Hopp. Scyler.* 1990; 370: 1321-1329.
52. Schleicher DE, Wagner EM, Olgemöller B, et al. Characterization and localization of basement membrane-associated heparan sulfate proteoglycan in human tissues. *Lab. Invest.* 1989; 61: 323-332.

53. **Stow JL, Sawada H, Farquhar MG.** Basement membrane heparan sulfate proteoglycans are concentrated in the laminae rarae and podocytes of the rat renal glomerulus. *Proc. Natl. Sci. USA.* 1985; 82: 3296-3300.
54. **Ruoslahti E.** Extracellular matrix in the regulation of cellular functions. En: Burger MM, Sordat B, Zinkernagel RM (eds) *Cell to cell interaction.* Karger Basel. 1990.
55. **E Nerlich A, Schleicher.** Immunohistochemical localization of extracellular matrix components in human diabetic glomerular lesions. *Am. Pathol.* 1991; 139: 889-899.
56. **Shimomura H, Spiro RG.** Studies on macromolecular components of human glomerular basement membrane and alterations in diabetics: decreased levels of heparan sulfate proteoglycan. *Diabetes.* 1987; 36: 374-381.
57. **Steffens MW, Osterby R, Chavers B, et al.** Mesangial expansion as a central mechanism for loss of kidney function in diabetic patients. *Diabetes.* 1989; 38: 1077-1081.
58. **Borch-Johnsen K, Krag AP, Deckert T.** The effect of proteinuria on relative mortality in type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia.* 1985; 28: 590-596.
59. **Svejgaard A, Jakobsen BK, Platz P et al.** HLA associations in insulin-dependent diabetes: search for heterogeneity in different groups of patients from a homogeneous population. *Tissue Antigens.* 1986; 28: 237-244.
60. **Sequist ER, Goetz FC, Rich S et al.** Concordance for nephropathy in diabetic siblings: Evidence of genetic susceptibility to diabetic kidney disease. *Diabetes.* 1987; 36 (suppl): 105 A.
61. **Rohrbach DH, Wagner CW, Star VL, et al.** Reduced synthesis of basement membrane heparan sulfate proteoglycan in streptozotocin-induced diabetic mice. *J. Biol. Chem.* 1983; 33: 19: 1672-1677.
62. **Viberti GC, Keen H.** Relevance to pathogenesis and prevention of nephropathy. *Diabetes.* 1984; 37: 1324-1327.
63. **Cohen MP, Klepser H, Wu VY.** Undersulfation of glomerular basement membrane heparan sulfate in experimental diabetes and lack of correction with aldose reductase inhibition. *Diabetes.* 1988; 37: 1324 -1327.
64. **Deckert T, Horowitz MI, Kofoed-Enevoldsen A, et al.** Possible genetic defects in regulation of glycosaminoglycans in patients with diabetic nephropathy. *Diabetes.* 1991; 40: 764 -770.
65. **Bray J, Robinson G.** Influences of charge of filtration across renal basement membrane films in vitro. *Kidney Int.* 1984; 25: 527-533.
66. **Kanwar YS, Veis A, Kimura JH, et al.** Characterization of heparan sulfate proteoglycan of glomerular basement membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1984; 81: 726-766.
67. **Kverneland A, Feldt-Rasmussen B, Vidal P, et al.** Evidence of changes in renal charge selectivity in patients with type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia.* 1986; 29: 634-639.
68. **Deckert T, Feldt-Rasmussen B, Djurup R et al.** Glomerular size and charge selectivity in type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia,* 1987; 30: 513 A.
69. **Deckert T, Feldt-Rasmussen B, Djurup R et al.** Glomerular size and charge selectivity in insulin-dependent diabetes mellitus. *Kidney Int.* 1988; 30: 100-106.

53. **Stow JL, Sawada H, Farquhar MG.** Basement membrane heparan sulfate proteoglycans are concentrated in the lamnae rarae and podocytes of the rat renal glomerulus. *Proc. Natl. Sci. USA.* 1985; 82: 3296-3300.
54. **Ruoslahti E.** Extracellular matrix in the regulation of cellular functions. En: Burger MM, Sordat B, Zinkernagel RM (eds) *Cell to cell interaction.* Karger Basel. 1990.
55. **E Nerlich A, Schleicher.** Immunohistochemical localization of extracellular matrix components in human diabetic glomerular lesions. *Am. Pathol.* 1991; 139: 889-899.
56. **Shimomura H, Spiro RG.** Studies on macromolecular components of human glomerular basement membrane and alterations in diabetics: decreased levels of heparan sulfate proteoglycan. *Diabetes.* 1987; 36: 374-381.
57. **Steffens MW, Osterby R, Chavers B, et al.** Mesangial expansion as a central mechanism for loss of kidney function in diabetic patients. *Diabetes.* 1989; 38: 1077-1081.
58. **Borch-Johnsen K, Krag AP, Deckert T.** The effect of proteinuria on relative mortality in type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia.* 1985; 28: 590-596.
59. **Svejgaard A, Jakobsen BK, Platz P et al.** HLA associations in insulin-dependent diabetes: search for heterogeneity in different groups of patients from a homogeneous population. *Tissue Antigens.* 1986; 28: 237-244.
60. **Sequist ER, Goetz FC, Rich S et al.** Concordance for nephropathy in diabetic siblings: Evidence of genetic susceptibility to diabetic kidney disease. *Diabetes.* 1987; 36 (suppl): 105 A.
61. **Rohrbach DH, Wagner CW, Star VL, et al.** Reduced synthesis of basement membrane heparan sulfate proteoglycan in streptozotocin-induced diabetic mice. *J. Biol. Chem.* 1983; 33: 19: 1672-1677.
62. **Viberti GC, Keen H.** Relevance to pathogenesis and prevention of nephropathy. *Diabetes.* 1984; 37: 1324-1327.
63. **Cohen MP, Klepser H, Wu VY.** Undersulfation of glomerular basement membrane heparan sulfate in experimental diabetes and lack of correction with aldose reductase inhibition. *Diabetes.* 1988; 37: 1324-1327.
64. **Deckert T, Horowitz MI, Kofoed-Enevoldsen A, et al.** Possible genetic defects in regulation of glycosaminoglycans in patients with diabetic nephropathy. *Diabetes.* 1991; 40: 764-770.
65. **Bray J, Robinson G.** Influences of charge of filtration across renal basement membrane films in vitro. *Kidney Int.* 1984; 25: 527-533.
66. **Kanwar YS, Veis A, Kimura JH, et al.** Characterization of heparan sulfatoproteoglycan of glomerular basement membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1984; 81: 726-766.
67. **Kverneland A, Feldt-Rasmussen B, Vidal P, et al.** Evidence of changes in renal charge selectivity in patients with type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia.* 1986; 29: 634-639.
68. **Deckert T, Feldt-Rasmussen B, Djurup R et al.** Glomerular size and charge selectivity in type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia,* 1987; 30: 513 A.
69. **Deckert T, Feldt-Rasmussen B, Djurup R et al.** Glomerular size and charge selectivity en insulin-dependent diabetes mellitus. *Kidney Int.* 1988; 30: 100-106.

70. Deckert T, Kofoed-Enevoldsen, Vidal K, et al. Size and charge selectivity of glomerular filtration in type I (insulin-dependent) diabetic patients with and without albuminuria. *Diabetologia*. 1993; 36: 244-251.
71. Gall MA, Rossing P, Kofoed-Enevoldsen et al. Glomerular size and charge selectivity en type II (non-insulin-dependent) diabetic patients with diabetic nephropathy. *Diabetologia*. 1994; 32: 195-201.
72. Tamsma JT, Van den Born J, Brujin JA, et al. Expression of glomerular extracellular matrix components in human diabetic nephropathy: decrease of heparan sulfate in the glomerular basement membrane. *Diabetologia*. 1994; 37: 313-320.
73. Wu VY, Wilson B, Cohen MP. Disturbances in glomerular basement membrane glycosaminoglycans in experimental diabetes. *Diabetes*. 1987; 36: 679-683.
74. Heickendorff L Leder T. Glycosaminoglycans of material basement membrane like material from cultured rabbit aortic myomedial cells. *Bichim. Byophys. Acta*. 1984; 798: 276-282.
75. Heickendorff L Leder T, Rasmussen LM. Glycosaminoglycans in the human aorta in diabetes mellitus: a study of tunica from areas with and without atherosclerotic plaque. *Diabetologia*. 1994; 37: 286-292.
76. Kanvar YS, Jakubowki MI, Rosenzweig IJ. Distribution of sulfated glycosaminoglycans in glomerular basement membrane and mesangial matrix. *Eur. J. Cell. Biol*. 1983; 31: 290-295.
77. Robinson J, Gospodariwicz D. Effect of p-Nitrophenyl- $\beta$ -D-xiloside on proteoglycans synthesis and extracellular matrix formation by bovine corneal endothelial cell cultures. *J. Biol. Chem*. 1984; 259: 3818-3824.
78. Mavrikakis ME, Kontoyannis D, Karli J et al. Glycosaminoglycans in urine, articular and periarticular tissues in streptozotocin diabetes in rats. *Endocrinol. Ex*. 1989; 23: 295-304.
79. Cotran RS, Rennke HG. Anionic sites and the machanism of proteinuria. *N. Engl. J. Med*. 1983; 309: 1050-1052.
80. Groggel GC, Stevenson J, Hoving P et al. Changes in heparan sulfate correlate with increased glomerular permeability. *Kidney Int*. 1988; 33: 517-523.
81. Parthasarathy N, Spiro RG. Effect of diabetes on the glycosaminoglycan component of the glomerular basement membrane. *Diabetes* Gall MA, Rossing P, Kofoed-Enevoldsen FS, et al. 1982; 31: 738-739.
82. Cohen MP, Surma ML. 35 S-sulfate incorporation glomerular basement membrane glycosaminoglycans in decreased in experimental diabetes. *J. Lab. Clin. Med*. 1981; 98: 715-720.
83. Shimomura H, Spiro RG. Studies on macromolecular components of human glomerular basement membrane and alterations in diabetes. Decreased levels of heparan sulfate proteoglycan and laminin. *Diabetes*. 1987; 36: 374-381.
84. Mitsuhashi H, Tsukada Y, Ono K et al. Urine glycosaminoglycans and heparan sulfate excretions in adult patients with glomerular diseases. *Clin. Nephrol*. 1993; 39: 231-238.
85. Kamada A. Effect of streptozotocin-induced diabetes on the structure of heparan sulfate from rat kidneys. *J. Osaka. Dent. Univ*. 1989; 23: 63-75.

86. **Gallagher JT, Lyon M, Steward WP.** Structure and function of heparan sulfate proteoglycans. *Biochem. J.* 1986; 236: 313-325.
87. **Hunsicker LG, Shearer TP, Shaffer SJ.** Acute reversible proteinuria induced by infusion of the polycation hexadimethrine. *Kidney Int.* 1981; 20: 7-17.
88. **Tarsio JF, Reger LA, Furch LT.** Molecular mechanism in basement membrane complications of diabetes. *Diabetes.* 1988; 37: 532-539.
89. **Hassel JM, Noonan DM, Ledbetter SR, et al.** Biosynthesis and structure of the basement membrane proteoglycans. John Wiley & Sons, Chchester, New York Brisbane Toronto. 1990; 204-222.
90. **Templeton DM.** Retention of glomerular basement membrane-proteoglycans accompanying loss of anionic site staining in experimental diabetes. *Lab. Invest.* 1989; 61: 202-211.
91. **Ishibashi T, Tanaka K, Taniguchi Y.** Platelet aggregation and coagulation in the pathogenesis of diabetic retinopathy in rats. *Diabetes.* 1981; 30: 601-606.
92. **Dallinger KJC, Jennings PE, Toop MJ, et al.** Platelet aggregation and coagulation factors in insulin dependent diabetics with and without microangiopathy. *Diabetic. Med.* 1987; 4 : 44-48.
93. **Dybdal H, Ledet T.** Diabetic microangiopathy. *Diabetologia.* 1987; 30: 882-886.
94. **Stender S, Hjelms E.** In vitro transfer of cholesterol from plasma into human aortic tissue. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1987; 47: 21-29.
95. **Lindal U, Feingold DS, Roden L.** Biosynthesis of heparin. *TIBS.* 1986; 11: 221-225.
96. **Eriksson UJ, Kjellen L, Unger E.** Decreased levels of high molecular weight proteoglycans in diabetic rats a malformation prone strain. *Diabetologia.* 1986; 29: 545 A.

## CAPITULO 5

### GLUCOSAMINOGLICANOS

#### CARACTERISTICAS BIOQUIMICO-ESTRUCTURALES.

Además de su papel como principal fuente de energía en los organismos vivos, los monosacáridos se encuentran a menudo como componentes de macromoléculas más complejas tales como los oligo y polisacáridos, glucoproteínas, glucolípidos y proteoglicanos.

Los proteoglicanos (PG) son constituyentes importantes de la matriz extracelular de los tejidos de los vertebrados e incluso en algunos microorganismos. Se diferencian de las glicoproteínas en que éstas tienen menor cantidad de glúcidos que proteínas, en contraposición a los PG en los que el 95% o más son glúcidos <sup>1</sup>. Los PG consisten en una porción proteica larga unida a cadenas de polisacáridos denominados glucosaminoglicanos (GAG). Los 7 GAG investigados (Acido Hialurónico-AH-; Condroitín-4-Sulfato -C4S-; Condroitín-6-Sulfato -C6S-; Dermatán Sulfato -DS-; Queratán Sulfato -QS-; Heparán Sulfato -HS- ; Heparina -Hna-) difieren en las unidades de disacáridos que la constituyen <sup>2</sup>. (Figuras 1 a 5).

Las unidades de disacáridos de AH, C4S; C6S y DS consisten en un residuo de ácido urónico y un residuo de hexosamina. Los disacáridos de QS contienen D-galactosa en lugar de ácido urónico. En el caso del HS y Hna los disacáridos no se limitan a D-glucosamina sino que también, y en grado variable, de ácido D-glucurónico y L-Idurónico <sup>3</sup>.

Aunque el AH, HS y Hna no parecen estar unidos a proteínas en el espacio extracelular está asumido sin embargo, que la formación de todas las cadenas de polisacáridos (PS) de los GAG comienzan en un núcleo proteico <sup>4</sup>.

La región de unión entre el núcleo proteico y la cadena de PS es un trisacárido neutro (Gal-Gal-Xyl) en el final de la cadena de carbohidratos, en cuyo caso la D-xilosa se encuentra unida a un residuo de serina de la cadena polipeptídica mediante enlace O-glicosídico o a un grupo oligosacárido en la que la N-acetil-hexosaminidasa está unida por la posición O-glicosilada a treonina o serina (QS-II). Puede estar unida a un grupo oligosacárido en el que la N-acetil-hexosamina está unida a la porción N-glicosilada al grupo amida de la asparagina (QS-I).

Debido al alto número de grupos carboxi (-COO), sulfato esterificados (-O-SO<sub>3</sub>) y sulfamina (-NH-SO<sub>3</sub>) los GAG son polianiones de tal manera que el número de cargas negativas por unidad de disacáridos es de 1 (AH, QS), hasta un máximo de 4 (Hna) <sup>5</sup>.

#### ACIDO HIALURONICO:

Se encuentra en una amplia variedad de órganos y tejidos de los organismos mamíferos tales como el líquido sinovial, humor vítreo del ojo, tejido conectivo y

embrionario (cordón umbilical). Pero además es sintetizado por bacterias formando parte de la membrana del estreptococo del grupo A.

A diferencia del resto de los GAG, no está sulfatado y no está unido de forma covalente a proteínas o al menos en porcentaje muy bajo (1%).

Consiste en unidades repetitivas disacáridas de N-acetil-glucosamina y ácido glucurónico con un peso molecular de  $10^5$  a  $10^7$ . Su elevado peso molecular, su carácter polielectrolítico y el gran volumen de agua que ocupa en solución contribuyen a las propiedades del AH como lubricante y amortiguador de golpes.

#### **DERMATAN SULFATO:**

Se ha aislado en varios tejidos como piel, cordón umbilical, mucosa intestinal, pared vascular, esclera, cápsula articular, tendones y válvulas cardiacas. Aunque predomina el ácido L-idurónico como constituyente de la unidad de disacáridos, en algunas preparaciones existe ácido D-glucurónico.

#### **QUERATAN SULFATO:**

Se caracteriza por su heterogeneidad molecular. Está compuesto fundamentalmente por una unidad repetitiva disacárida de N-acetilglucosamina y galactosa no existiendo ácido urónico. Se han encontrado dos tipos de QS que difieren en su contenido glucídico global y en su distribución tisular. Ambos contienen manosa, fucosa, ácido siálico y N-acetil-galactosamina. El QS-I aislado en la córnea, está unido a la proteína mediante un enlace N-acetil-glucosamina-asparaginasa. El QS-II aislado en el cartilago, está unido a la proteína a través del enlace glicosídico entre la N-acetilgalactosamina y serina o treonina.

#### **A) FUNCIÓN:**

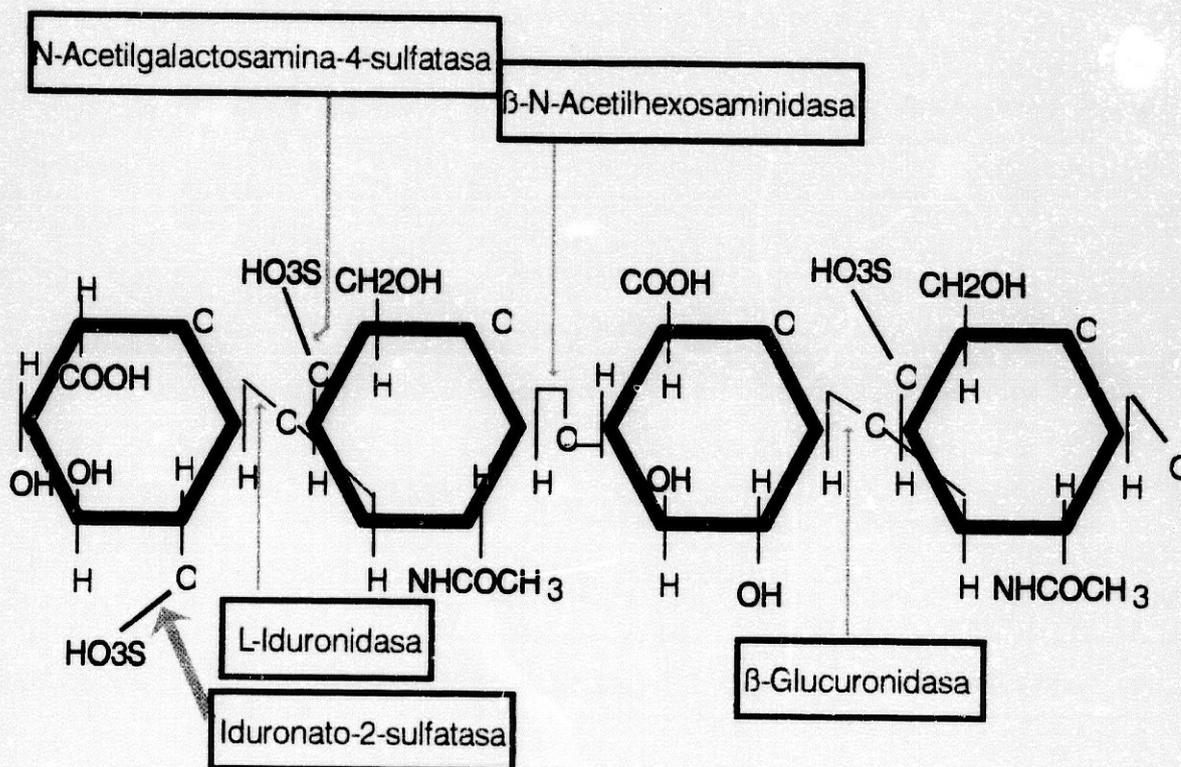
Como se ha indicado anteriormente el AH debido a su tamaño y disposición lineal, tiene una marcada capacidad para unir agua dándole a las soluciones acuosas una alta «viscosidad».

Con relación a la «tensión» ejerce su función en la piel y la aorta<sup>6</sup>. Además su capacidad de captación de agua y el resultante aumento de presión juegan un papel importante en el mantenimiento de la «turgencia» del humor vítreo en el ojo.

Los PG sulfatados pueden fijar más de 100 veces su propia masa de agua. Distribuyen la presión uniformemente, de tal manera que el CS está en articulaciones de gran carga y en zonas de la piel de mayor presión (planta del pie).

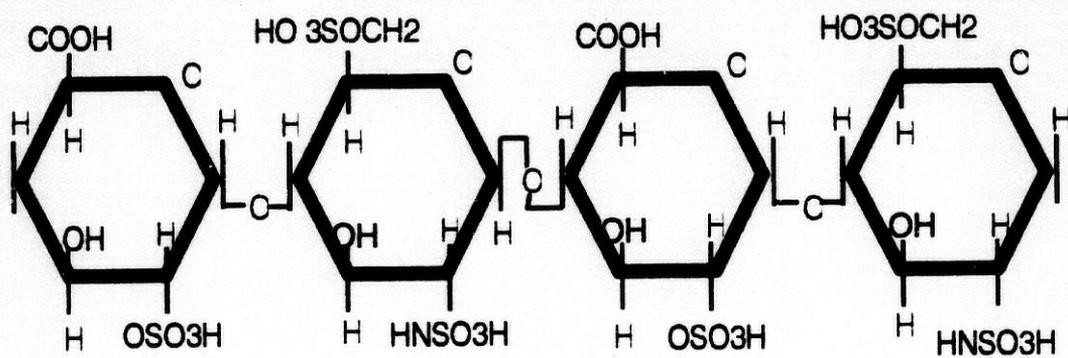
Otra función de los PG sulfatados es la de «filtro». Al poseer un alto grado de hidratación las sales y otros compuestos de bajo peso molecular pueden difundir a través del gel de PG, pero las proteínas no pueden. De ahí su importancia en las membranas basales.

Tanto los grupo sulfatados como los grupo carboxi de los PG se ionizan a pH neutro. Los polianiones son relativamente inmóviles en el cartilago y otros tejidos conectivos y esto les da propiedades de «intercambiador catiónico». La concentración de ion sodio es bastante más alta en la matriz que en la zona que le rodea.



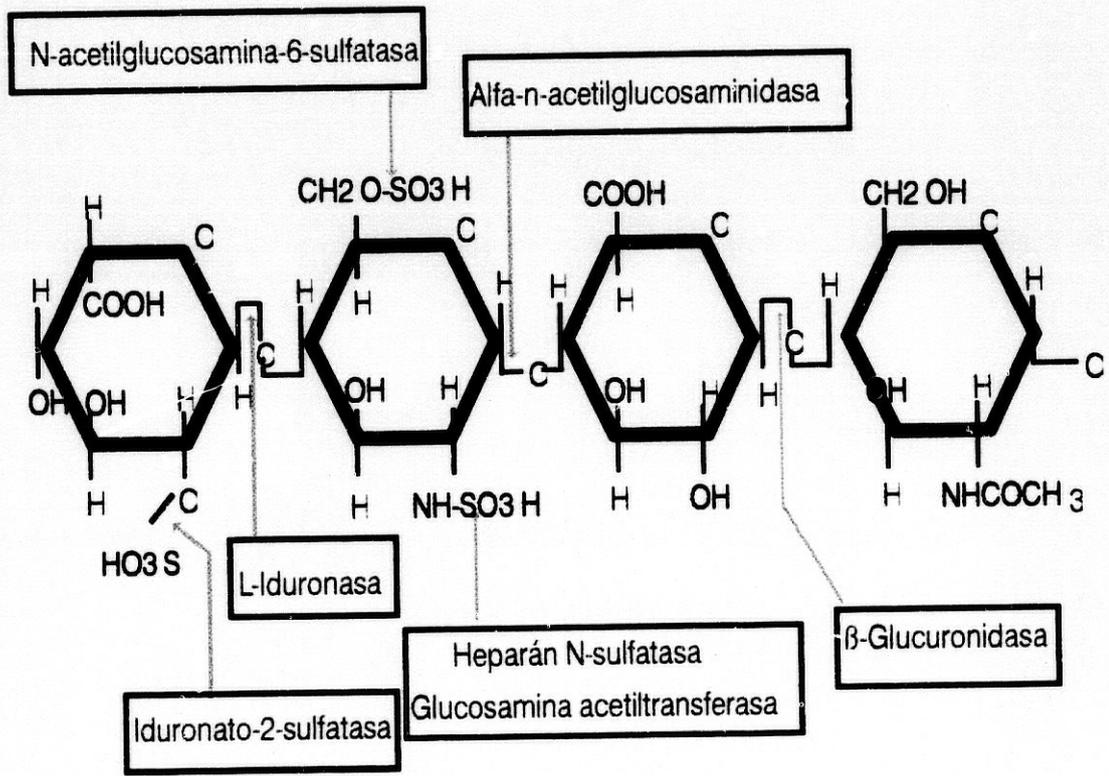
## DERMATÁN SULFATO

FIGURA 1



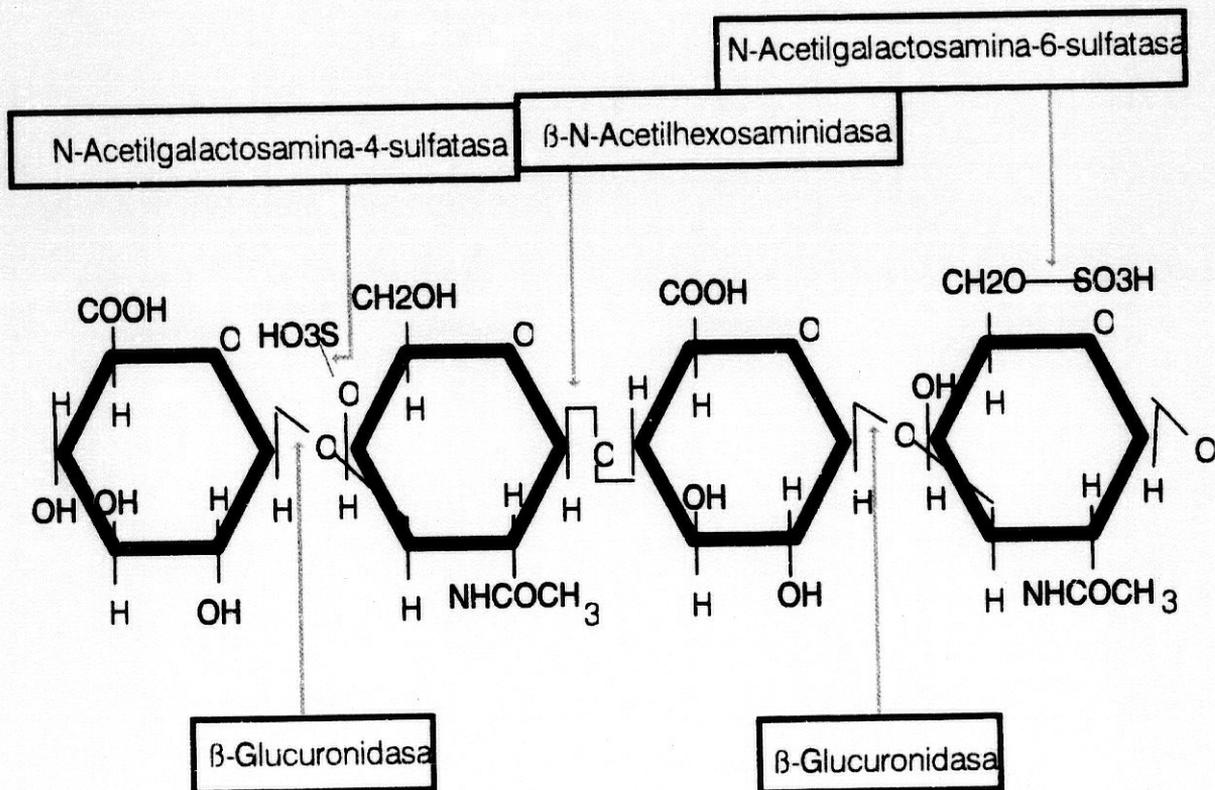
## HEPARINA

FIGURA 2



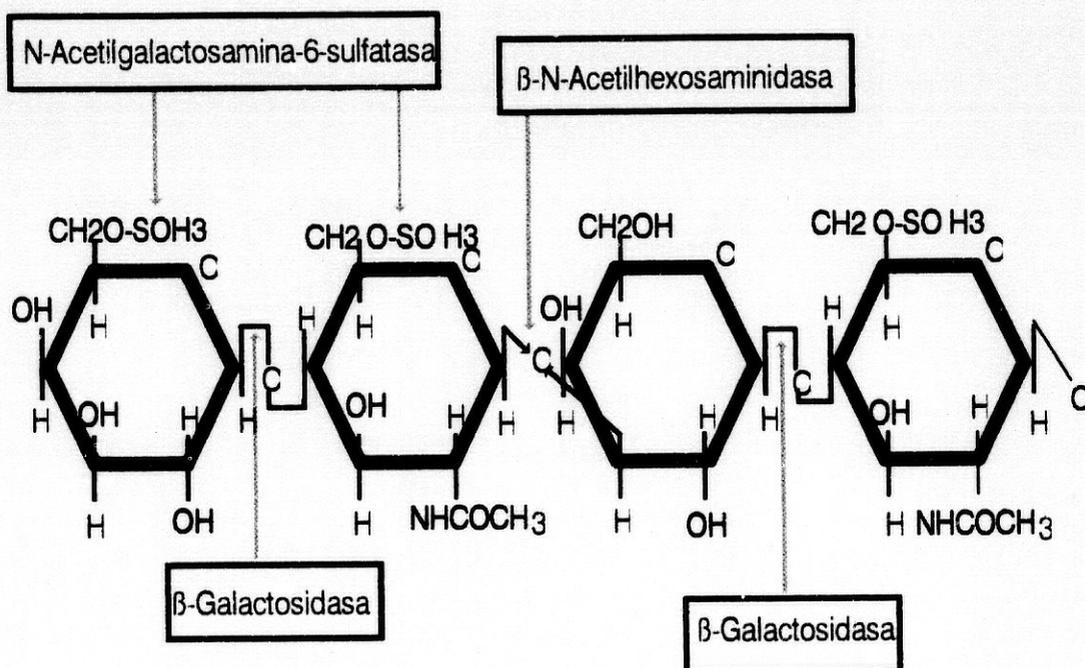
## HEPARÁN SULFATO

FIGURA 3



## CONDROITÍN SULFATO

FIGURA 4



## QUERATÁN SULFATO

FIGURA 5

Los agregados de PG poseen una importante función en la regulación de la calcificación del cartilago, inhibiendo la formación de cristales de fosfato cálcico <sup>7</sup>.

Los GAG que contienen ácido L-idurónico (DS, HS, Hna) forman complejos solubles con las lipoproteínas séricas de baja densidad, relacionándose con «la génesis de la arteriosclerosis» <sup>8</sup>.

El efecto de la Hna sobre la coagulación es debido al hecho de que parte de esta molécula se combina con la proteinasa inhibidora de la Antitrombina III, dándole un cambio conformacional a dicha molécula. Esto encabeza una inactivación acelerada de las proteinasas séricas envueltas en la coagulación sanguínea. La secuencia de unión a la Antitrombina III está formada por 8 monosacáridos y su función anticoagulante se neutraliza por una proteína plaquetaria (Factor plaquetario IV). El terminal carboxi de esta proteína es rico en lisina catiónica y residuos de arginina que le dan unas características de unión electrostática a la Hna. Otro enzima que se une a la Hna es la lipoprotein lipasa <sup>9</sup>.

## **B) BIOSÍNTESIS.**

La síntesis comienza con la formación de la cadena peptídica del núcleo proteico. Dicho núcleo proteico parece estar dividido y tener un peso molecular de  $2 \cdot 10^5$ . Posteriormente en el retículo endoplásmico rugoso se van añadiendo de forma consecutiva los sucesivos residuos monosacáridos (GAG unidos por enlace O-glicosídico) o a cadenas de oligosacáridos previamente enlazados (GAG unidos por enlace N-glicosídico).

Los residuos de monosacáridos han de ser activados inicialmente, convirtiéndolos en ésteres. Posteriormente, sufren una unión  $\alpha$ -glicosídica pero es la  $\beta$  la más frecuente por lo que se requiere una inversión estérica.

Una excepción al esquema básico de síntesis consiste en el hecho de la unión  $\alpha$ -glicosídica del ácido L-idurónico en el DS, HS y Hna que se forma por la posterior isomerización en el interior de la cadena de ácido D-glucurónico unido por el enlace  $\beta$ -glicosídico mediante una C-5-epimerasa (Heparosan-N-sulfato-glucuronato-5-epimerasa).

En la síntesis de los GAG unidos por un enlace O-glicosídico una unidad de monosacáridos de la región de unión es la primera en entrelazarse a la proteína. Así la xilosa, en forma de UDP-xilosa, es transferida al grupo hidroxil de la serina; o la acetilgalactosamina que es transferida como UDP-acetil-galactosamina al grupo hidroxilo de la treonina o serina. La unión de la cadena de oligosacáridos a través de la N-acetilglucosamina a través de la asparagina en el núcleo proteico se ha encontrado en el QS-1.

La sulfatación se realiza por medio de las sulfotransferasas, pero un paso previo es la formación del fosfato activo (PAPS  $\rightarrow$  3' fosfoadenosina 5' fosfosulfato) formado a partir de ATP y sulfato en dos pasos.



Para la síntesis de la cadena se necesita una serie de enzimas que son específicas

para el monosacárido donador, aceptor y conformación de la unión. El crecimiento posterior de la molécula se puede bloquear añadiendo ácido acetilneuramínico, fucosa o por la sulfatación de la N- acetilgalactosamina en posición 4.

El AH se sintetiza fundamentalmente por los fibroblastos y algunos condrocitos (Figura 6). La primera unidad de disacáridos que se forma es UDP-glucurónico y UDP-N-glucosamina, con sucesivas adiciones de las mismas al final de la cadena reducida. En cada paso se añade la molécula y se libera posteriormente el nucleótido con el subsiguiente gasto de energía <sup>10</sup>.

En el caso del QS, la transferencia de los residuos de galactosa se realiza con la ayuda de UDP-gaiactosa: queratán galactosultransferasa.

La formación del DS se caracteriza por la epimeración C5 del ácido D-glucurónico a L-idurónico unida al proceso de sulfatación, de tal manera que dicha epimerización sólo ocurre después de la formación de galactosamina-4-sulfato.

Para la Hna y HS los pasos adicionales son la N-deacetilación de los residuos de N-acetilglucosamina y la N-sulfatación, además del indispensable paso final de la epimerización del ácido D-glucurónico al L-idurónico. La sulfotransferasa tiene una mayor afinidad por el grupo 2-amino que por el 6-hidroxi de la glucosamina. La O-sulfatación sólo tendrá lugar cuando se ha completado la n-sulfatación total de la cadena. El grado de sulfatación se controla con la suplementación de PAPS.

### **C) DEGRADACIÓN.**

La degradación de los PG incluye por un lado a la hidrólisis del núcleo proteico y por otro la división del polisacárido por endoglicosidasas. También pueden actuar exoglicosidasas que van dividiendo la cadena progresivamente desde el terminal no reducido.

En el caso del AH una endoglicosidasa -hialurono-glucosaminidasa (hialuronidasa)- divide la unión  $\beta 1'4$  entre la N-acetilglucosamina y el ácido D-glucurónico (Figura 6). Tras la prolongada acción de este enzima al tetrasacárido  $\text{GlcUA}\beta 1\text{---}3\text{GlcNAc}\beta 1\text{---}4\text{GlcNAc}$  se forma como producto principal. La unión  $\beta 1'3$  entre el ácido glucurónico y la N-acetilglucosamina se puede romper por el exoenzima  $\beta$ -glucuronidasa y la unión  $\beta 1'4$  entre la N-acetilglucosamina y el ácido D-glucurónico por el exoenzima N-acetil- $\beta$ -glucosaminidasa, de tal manera que ambos enzimas trabajan alternativamente. Como siempre, no se realiza la destrucción total del ácido hialurónico, detectándose en orina varios polisacáridos y oligosacáridos derivados del mismo.

Los radicales superóxido están relacionados con la polimerización del AH en las enfermedades articulares inflamatorias. La reacción de estos radicales y el peróxido de hidrógeno, ambos secretados por los granulocitos durante la fagocitosis, producen la formación de  $\text{OH}^\cdot$  que probablemente inducirá la división de la unión glicosídica:



De tal manera que la conversión del  $\text{O}_2^\cdot$  por la superóxido dismutasa previene la despolimerización del AH.



La degradación del CS y QS sufre una serie de pasos; en primer lugar se altera el núcleo proteico por proteinasas neutras bien específicas de tejidos o leucocitarias; como la catepsina G y leucocitoelastasa. Los fragmentos así formados difunden hacia la matriz y son excretados casi sin unir, por la orina o bien fagocitados por células como las de la superficie sinovial o los granulocitos, rompiéndose en este caso en el interior de las vesículas lisosomiales. En esta degeneración se implican 3 enzimas como son: proteinasas (catepsinas), sulfatasas y glicosidasas. La hialurono-glucosaminidasa puede despolimerizar no solo el AH sino también el CS.

Las exoglicosidasas comienzan a actuar en el terminal no reducido siendo las primeras en dividirse el terminal de ácido N-acetilneuramínico o la fucosa. Si la N-acetil-galactosaminidasa-4-sulfato o N-acetil-galactosamina-6-sulfato está presente en el terminal, el grupo sulfato ha de ser lo primero que los enzimas han de atacar. Con posterioridad la degradación se lleva a cabo por la  $\beta$ -glucuronidasa en el caso del CS y la  $\beta$ -galactosidasa en el caso del QS<sup>11</sup>.

No existen enzimas específicas para la hidrólisis de la unión entre serina y xilosa. La  $\beta$ -glicosidasa puede actuar como una  $\beta$ -xilosidasa.

La vida media de los GAG sulfatados en el cartilago del humano adulto es de 400-700 días y el tiempo de recambio es de 600-1000 días. ( Tiempo de recambio = GAG sulfato total (mmol) / Rango principal de incorporación de sulfato (mmol/dl).

La Hna y HS se pueden degradar por exoglicosidasas y endoglicosidasas como la heparín-liasa ( heparinasa) del hígado de rata que las transforma en fragmentos con un tamaño de 4000 daltons. Además existe un enzima plaquetario que actúa sobre la Hna y HS de la superficie endotelial.

Los exoenzimas actúan, como se ha indicado anteriormente, sobre el extremo no reducido de la cadena, de tal manera que la acción de dichos enzimas depende de la estructura de la cadena. El grupo sulfato en el ácido idurónico-2-sulfato es dividido por un enzima específico, Iduronato-2-sulfatasa (Factor correctivo de Hunter ) que junto con la L-Iduronidasa, intervienen en la degradación del DS. La 3-O-sulfatasa es específica de la Hna.

Una característica especial de la degradación del HS consiste en que una vez sulfatado la N-glucosamina sulfato es dividida por el Heparán-N-sulfatasa ( Factor A Sanfilipo) formando un residuo de glucosamina con un grupo amino libre. No se dispone de enzimas para la división de este residuo de oligosacáridos, quedando como única posibilidad la N-acetilación primaria por la Glucosamina-acetiltransferasa.

## **GAG URINARIOS EN ENFERMEDADES RENALES Y SISTEMICAS.**

### **1) ENFERMEDADES NEFROUROLOGICAS.**

Los GAG, además de formar parte de la membrana basal glomerular, también son parte constituyente de la matriz extracelular y de la película de mucopolisacáridos de las superficies uroepiteliales, por lo que la alteración en alguna de estas estructuras va a determinar una excreción urinaria alterada de GAG<sup>12,13,14</sup>.



BAGGIO y col.<sup>15</sup> demostraron una elevación urinaria de GAG en la «glomerulonefritis». Posteriormente MITSUHASHI<sup>16</sup> comprueba en diferentes enfermedades glomerulares que está aumentada la eliminación de GAG, fundamentalmente el HS-PG y este dato puede ser de ayuda en el diagnóstico precoz de enfermedad renal, aunque en situaciones graves con insuficiencia renal crónica esta alteración persiste y se discute su valor<sup>17</sup>.

Recientemente TENCER y cols.<sup>18</sup> estudian la excreción urinaria de GAG en 150 pacientes con diferentes tipos de glomerulonefritis, indicando que se produce un descenso del turnover de GAG, sobre todo en las glomerulonefritis endocapilares.

GLASSOCK<sup>19</sup> encuentra este hallazgo en las glomerulonefritis postestreptocócica e indica que puede tener valor en el diagnóstico diferencial de las glomerulopatías.

En el «síndrome nefrótico» son múltiples los trabajos con GAG. En estudios experimentales en ratas con síndrome nefrótico inducido por aminoglucósidos se observa que hay un incremento en la síntesis glomerular de HS-PG con aumento de su excreción urinaria<sup>20</sup>.

En el síndrome nefrótico congénito se ha comprobado la disminución del Heparán Sulfato de la MBG, hecho responsable de la alteración de la permeabilidad y en consecuencia del aumento de GAG en orina<sup>21</sup> y de albuminuria<sup>22</sup>.

Es importante el trabajo de JADRESIC y cols. en 1991<sup>23</sup> en el que relacionan la excreción urinaria de GAG y de albuminuria.

En el síndrome nefrótico secundario a tratamiento esteroideo en niños, LEVIN<sup>24</sup> indica que el descenso de la carga negativa de la MBG ocasionada por la alteración de los GAG es la responsable de la albuminuria. Incluso en lesiones glomerulares con cambios mínimos anatomopatológicos se observa un ascenso de los GAG urinarios<sup>25,26</sup> existiendo correlación con la microalbuminuria.

En la «nefropatía endémica de los Balcanes», que es un prototipo de proteinuria de origen tubular con alteración de los enzimas laticodeshidrogenasa, N-acetil-beta-glucosaminidasa y alanina-aminopeptidasa<sup>27</sup>, la excreción urinaria de GAG está muy alterada produciéndose un aumento marcado en las fases incipientes de la enfermedad<sup>28</sup>, por lo que RADOVANOVIC y cols.<sup>29</sup> indican que puede ser un buen marcador de enfermedad.

Se han encontrado correlaciones entre la excreción urinaria de GAG y proteínas de bajo peso molecular como la  $\beta_2$ -microglobulina<sup>30</sup> e incluso con enzimas lisosómicos como el N-acetil- $\beta$ -glucosaminidasa<sup>31</sup>.

En los pacientes con «trasplante renal» cuando se produce el rechazo crónico se observa un aumento de los enzimas lisosómicos. De la misma forma MURATA<sup>32</sup> encuentra un incremento de los GAG en la matriz extracelular renal. El incremento del ácido hialurónico indica lesión peritubular<sup>33</sup>.

En un estudio de 37 pacientes con trasplante renal se observó que el incremento de la excreción urinaria de GAG es mucho mayor en los pacientes con rechazo que en los pacientes que no presentaron rechazo del riñón trasplantado<sup>34</sup>. Por este motivo se indica, que puede ser un marcador precoz de rechazo tras trasplante renal, la determinación urinaria de GAG.

La posibilidad de padecer «litiasis renal» está en relación con la concentración urinaria de ácido úrico y albúmina así como con la frecuencia de infecciones urinarias, diabetes, embarazo etc. Se ha comprobado que los GAG en orina disminuyen el riesgo

de formación de cálculos renales<sup>35,36</sup> al tener un papel inhibitor de algunos mecanismos litogénicos: influir sobre el crecimiento cristalino y agregación de oxalato cálcico<sup>37,38</sup>.

Estudios posteriores demuestran, sin embargo, que en ningún caso esta acción es relevante con respecto a la calculogénesis oxalacética<sup>39</sup>. Por otra parte a los GAG se les ha adjudicado una capacidad antiinfecciosa por su capacidad de unión con las bacterias, lo que facilitaría su eliminación por la orina y no predispondría a la aparición de cálculos<sup>40</sup>.

Se ha comprobado de forma experimental que los GAG urinarios inhiben «in vitro» la actividad de diferentes componentes de los cálculos renales<sup>41</sup> en pacientes con litiasis renal en comparación a sujetos sanos. El aumento del ácido úrico en orina es paralelo al de GAG<sup>42</sup>.

GAMBARO<sup>43</sup> observa que los GAG inhiben la actividad de los cristales de oxalato cálcico y de otras sustancias de la orina en pacientes con mayor riesgo de padecer litiasis como son los diabéticos y las mujeres embarazadas.

Siguiendo con los efectos beneficiosos de los GAG a nivel de las células endoteliales urogenitales se ha comprobado que la mucosa vesical, por su acción antiadherente no específica de las agresiones de las bacterias<sup>44</sup>, e incluso del efecto de ciertas sustancias carcinógenas actuando de barrera a nivel de las células de transición<sup>45,46</sup>.

Un hecho fisiopatológico fundamental en la evaluación de la «nefropatía diabética» es la presencia de microalbuminuria, que se debe a la hiperfiltración glomerular y a la alteración de la MBG debido a una expansión del mesangio y engrosamiento de la MBG<sup>47</sup>. A través de los capilares se produce un paso de partículas dependiendo de la carga y del tamaño de estas, además del gradiente de presión intraglomerular.

La presencia de microalbuminuria permite confirmar la existencia de una nefropatía incipiente<sup>48</sup> y tiene un gran valor pronóstico en la evolución de la enfermedad. Pero antes de que aparezca la microalbuminuria se han producido los cambios en la MBG.

Los GAG juegan un importante papel en la MBG como función de filtro selectivo al ser los responsables de la carga eléctrica negativa.

En la diabetes mellitus se ha observado que existe una reducción de las cargas eléctricas negativas de la MBG por descenso del heparán-sulfato-proteoglicano<sup>49</sup>, hecho que como hemos dicho antes favorece la albuminuria junto al aumento del tamaño del poro.

En las fases tempranas de la nefropatía se ha constatado un incremento de la actividad de los enzimas encargados del metabolismo de las glicoproteínas y mucopolisacáridos (NAG,  $\beta$ -glucuronidasa) responsables de la rotura intracelular de macromoléculas complejas y de la degradación de glucoconjugados de la membrana endotelial<sup>50</sup>. Esto ocasiona una alteración en la estructura de la MBG con excreción anormal de GAG<sup>51</sup>.

Estudios experimentales en ratas han comprobado los siguientes hechos:

- descenso de la síntesis total de GAG y heparán-sulfato<sup>52</sup>
- incremento de la síntesis de condroitín-sulfato<sup>53</sup>
- cambio en la sulfatación del heparán-sulfato<sup>54</sup>
- incremento en la excreción urinaria de GAG y heparán sulfato<sup>55</sup>.

En un reciente estudio realizado por nosotros <sup>56</sup> en pacientes diabéticos con diferente grado de nefropatía, comprobamos que la excreción urinaria de GAG se hace mayor conforme avanza el grado de afectación renal, pero que las modificaciones se hacen evidentes, respecto a los controles sanos, en las fases incipientes de la nefropatía diabética. Esto nos hace sospechar que primero se produce la disminución de la selectividad de la carga, aunque aún no se altere el tamaño del poro y no exista microalbuminuria.

Al ser la diabetes un proceso de larga evolución es obvio pensar que en niños y adolescentes, en los que aún no existe afectación renal, no se alteran los GAG urinarios <sup>57</sup>. En la diabetes juvenil BONAVIDA <sup>58</sup> sugiere que el incremento de la degradación del heparán sulfato de la MBG va a depender del tiempo de evolución de la enfermedad, aunque no así del grado de control de la glucemia.

En un editorial JENSEN <sup>59</sup> se pregunta sobre el papel que juegan los GAG en la patogenia de la nefropatía diabética. En un estudio experimental KARASAWA y cols. <sup>60</sup> demuestra que hay incremento del condroitín sulfato y descenso del heparán sulfato en la MBG de ratas diabéticas y que el incremento del primero es el mejor marcador precoz de lesión renal.

Por métodos inmunohistoquímicos se ha comprobado <sup>61</sup> que en pacientes diabéticos con afectación del filtrado glomerular, que aún no tienen microalbuminuria, se produce un descenso del heparán sulfato y del colágeno IV en los capilares y MBG.

## **2) ACCION DE CIERTOS FARMACOS Y TOXICOS.**

Se conoce que algunos antiinflamatorios no esteroideos pueden tener un efecto sobre el metabolismo de los GAG. Se ha demostrado que la indometacina reduce la excreción de glucosaminoglicanos y que el naproxeno inhibe algunos enzimas lisosómicos encargados de su degradación (N-acetil- $\beta$ -glucosaminidasa y  $\beta$  glucuronidasa) <sup>62,63</sup>. Sin embargo SHARMA <sup>64</sup> no encuentra este efecto con el diclofenaco sódico.

Basados en la acción inhibitoria de algunos AINE sobre las GAG renales se han empezado a utilizar con fines terapéuticos en la nefropatía diabética <sup>65,66</sup>. BAGGIO <sup>67</sup> utiliza el imidazol-2-hidroxibenzoato (ITF-182) que inhibe la secreción urinaria de GAG y albúmina al reducir la filtración glomerular, alterar el contenido de mucopolisacáridos de la MBG e incluso modificando la selectividad de carga y el tamaño del poro. Todavía son prematuros estos trabajos para asegurar su efecto sobre la prevención de la nefropatía diabética.

También se ha observado el efecto beneficioso sobre la excreción de albúmina en ratas diabéticas a las que se les administró heparina subcutánea <sup>68</sup> aumentando el espesor de la MBG, que se alarga su efecto a lo largo del tiempo <sup>69</sup>, por lo que se puede frenar la evolución de la nefropatía diabética.

En estudios en humanos MYRUP <sup>70</sup> comprueba que la administración de heparina de bajo peso molecular en los pacientes con diabetes mellitus que presentan nefropatía establecida reduce la excreción de microalbuminuria.

Con fines diagnósticos también se utiliza la excreción urinaria de GAG para valorar el daño ocasionado por diversos tóxicos. Se obtienen resultados similares o mejores a la excreción de albúmina en trabajadores expuestos al cadmio <sup>71</sup> o a

hidrocarburos <sup>72</sup> en los que la lesión renal, si se diagnóstica a tiempo, puede ser reversible.

### **3) HIPERTENSIÓN ARTERIAL.**

Las causas de la pérdida de selectividad de la barrera de filtración y la consiguiente aparición de proteínas por la orina puede tener su origen en un aumento de la presión intraglomerular.

El mecanismo por el cual la proteinuria puede producir mayor deterioro glomerular no se conoce con exactitud. Se ha postulado que podría deberse a una destrucción mecánica de la estructura normal de la barrera de filtración glomerular. Además en estas situaciones en las células podocitarias se produce un aumento de la captación de las macromoléculas filtradas que conduce a la formación de grandes vacuolas. Esto provoca la aparición de lesiones estructurales y funcionales irreversibles en las células podocitarias <sup>73</sup>.

Por otra parte la pérdida de las propiedades selectivas de la barrera de filtración glomerular puede aumentar el tránsito de macromoléculas a través del mesangio que contribuye a la activación de la célula mesangial y al aumento de la síntesis de matriz mesangial lo que desemboca en la glomerulosclerosis, lesión fundamental de la nefropatía hipertensiva <sup>74</sup>.

En un principio se comprobó que eran los GAG los que se alteraban en el riñón del hipertenso <sup>75</sup>. Son numerosos los estudios experimentales que comprueban el incremento del ácido hialurónico o del heparán sulfato en la matriz extracelular renal de los pacientes hipertensos <sup>76,77</sup>. Estudios realizados en pacientes con hipertensión arterial han comprobado que el aumento en la excreción de glucosaminoglicanos por la orina va a depender del grado de hipertensión arterial <sup>78</sup> y que se relaciona con la microalbuminuria, de tal forma, que primero se observa el incremento de los GAG urinarios y posteriormente, cuando ya se ha producido el deterioro de la MBG, es cuando empieza a aparecer microalbuminuria <sup>79</sup>.

### **4) OTRAS ENFERMEDADES.**

Hay otras situaciones en las que los GAG pueden estar alterados, aunque nunca con la significación que hemos visto en las enfermedades renales.

En las «mucopolisacaridosis» se ha encontrado elevación de algunos proteínoglicanos unidos a moléculas de mucopolisacáridos <sup>80,81</sup>, incluso se describen algunos test de screening útiles para el diagnóstico de estas enfermedades basados en la actividad urinaria de los GAG <sup>82</sup>.

En «enfermedades endocrinas» como el hipotiroidismo se ha visto el papel de la hormona tiroidea en el metabolismo de los GAG, ya que al administrar dicha hormona aumenta la excreción urinaria de GAG <sup>83</sup>, o en la diabetes insípida con similares efectos al administrar hormona antidiurética <sup>84</sup>.

La matriz ósea contiene GAG los cuales juegan una función bien precisa en la «mineralización del hueso». Se ha encontrado una correlación entre la excreción urinaria de calcio y GAG, observándose un descenso de estos últimos tras el tratamiento con calcitonina <sup>85</sup>.

En diferentes enfermedades reumáticas como la osteoartritis, espondilitis anquilosante y artritis reumatoide se ha determinado la excreción urinaria de GAG como indicador de actividad de los diferentes procesos patológicos<sup>86,87</sup>.

En determinados procesos se ha comprobado que los GAG se acumulan en el tejido conectivo<sup>87</sup>. ELAEV<sup>88</sup> observó un aumento de la concentración urinaria de GAG en pacientes con siringomielia y se sugiere que en dicha enfermedad ocurre un trastorno del metabolismo del tejido conectivo implicado en su patogenia<sup>89</sup>.

## BIBLIOGRAFÍA:

1. Jackson RL, Busch SJ, Cardin AD. Glycosaminoglycans: Molecular properties, protein interactions and role in physiological processes. *Physiol. Rev.* 1991; 71: 481-539.
2. Hassell JR, Kimura JH, Hascall C. Proteoglycan core protein families. *Annu. Rev. Biochem.* 1986; 55: 539-567.
3. Rooslahti E. Structure and biology of proteoglycans. *Annu. Rev. Cell. Biol.* 1988; 4: 229-255.
4. Doege K, Sasaki E, Horigan, et al. Complete primary structure of the rat cartilage proteoglycan core protein deduced from cDNA clones. *J. Biol. Chem.* 1987; 262: 1757-1767.
5. Sundblad G, Holojda L, Rouxa A, et al. Sulfated N-linked oligosaccharides in mammalian cells. II. Identification of glycosaminoglycan-like chain attached to complex-type glycans. *J. Biol. Chem.* 1988; 263: 890-896.
6. Salisbury BGJ, Hajjar DP, Minnick CR. Altered glycosaminoglycan metabolism in injured arterial walls. *Exp. Mol. Pathol.* 1985; 42: 306-319.
7. Cardin AD, Weintraub HJR. Molecular modeling of protein glycosaminoglycan interactions. *Arteriosclerosis.* 1989; 9: 21-32.
8. Tracy RE, Dzoga KR, Wissler RW. Sequestration of serum low-density lipoproteins in the arterial intima by complex formation. *Proc. Soc. Biol. Med.* 1965; 108: 1095-1098.
9. Smith JW, Knauer A. A heparin-binding site in ATIII. Identification, purification and amino acid sequence. *J. Biol. Chem.* 1987; 262: 1964-1973.
10. Mann DM, Yamaguchi Y, Bourdon MA, et al. Analysis of glycosaminoglycan substitution in decorin by site-directed mutagenesis. *J. Biol. Chem.* 1990; 265: 317-323.
11. Bienkowski MJ, Conrad HE. Kinetics of proteoheparan sulfate synthesis, secretion, endocytosis, and catabolism by a hepatocyte cell line. *J. Biol. Chem.* 1984; 259: 989-996.
12. Parthasarathy N, Spiro RG. Characterization of the glycosaminoglycan component of the renal glomerular basement membrane and its relationship to the peptide portion. *J. Biol. Chem.* 1981; 256: 507-512.
13. Baggio B, Gaambaro G, Cicerello E, et al. Urinary excretion of glucosaminoglycans in urological disease. *Clin. Biochem.* 1987; 20: 449-450.
14. Cotran RM, Rennke HG. Anionic sites and the mechanism of proteinuria. *N. Engl. J. Med.* 1983; 309: 1050-1051.

15. **Baggio B, Briani G.** Urinary excretion of glycosaminoglycans and brush border and lysosomal enzymes as a marker of glomerular and tubular involvement in kidney disease. *Contrib Nephrol.* 1984; 42:107-109.
16. **Mitsuhashi H, Tsukada Y, Ono K, et al.** Urine glycosaminoglycans and heparan sulfate excretions in adult patients with glomerular diseases. *Clin. Nephrol.* 1993; 40: 231-237.
17. **Bower L, Warren C, Manley G.** Human serum and urine glycosaminoglycans in health and in patients with chronic renal failure. *Ann. Clin. Biochem.* 1992; 29:190-195.
18. **Tencer J, Torffvit O, Björnsson S, et al.** Decreased excretion of glycosaminoglycans in patients with primary glomerular diseases. *Clin. Nephrol.* 1997; 48: 212-219.
19. **Glasscock RJ.** Primary glomerular disease. En: Brenner BM(ed). *The kidney.* London. W.B. Saunders Company. 1995:1397-1400.
20. **Klein DJ, Dehenel PJ, Oegema TR, et al.** Alterations in proteoglycan metabolism in the nephrotic syndrome induced by the aminonucleoside of puromycin. *Lab. Invest.* 1984; 50:543-551.
21. **Vernylen C, Levvin M, Mossman J, et al.** Glomerular and urinary heparan sulphate in congenital nephrotic syndrome. *Pediatr. Nephrol.* 1989; 3: 122-129.
22. **Van Den Heuvel LP, Van Den Born, Jalenko, et al.** The glycosaminoglycan content of renal basement membranes in the congenital nephrotic syndrome of the Finnish Type. *Pediatr. Nephrol.* 1992; 6:10-15.
23. **Jadrecic LP, Filler G, Barret TM.** Urine glycosaminoglycans in congenital and acquired nephrotic syndrome. *Kidney Int.* 1991; 40: 280-284.
24. **Levin M, Gascoine P, Turner MW, et al.** A highly cationic protein in plasma and urine of children with steroid-responsive nephrotic syndrome. *Kidney Int.* 1989;36: 867-877.
25. **Briani G, Baggio B, Brutomesso D, et al.** Early urinary marks of renal involvement in diabetic nephropathy. *Minerva Endocrinol.* 1987; 12: 149-152.
26. **Klein DJ, Brown DM, Oeema TR.** Glomerular proteoglycans in diabetes. Partial structural characterization and metabolism of the novo synthesized heparan-35SO4 and dermatan-35SO4 proteoglycans in streptozocin-induced diabetic rats. *Diabetes.* 1986; 35: 1130-1142.
27. **Stavljenic A, Cvriscec D, Radonic M, et al.** Urinary enzymes and kidney damage. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1986; 24: 701.
28. **Juretic D, Cvoriscec D, Benkovick J, et al.** Urinary glycosaminoglycans in different phases of balkan endemic nephropaty. *Nephron.* 1993; 65: 564-567.
29. **Radovanovic Z, Velimirovic D, Naumovic T.** Upper urothelial tumors and the Balkan nephropaty. *Eur. J. Cancer.* 1980; 26: 391-392.
30. **Lubec G, Kircher S.** Non-invasive diagnosis of tubular damage by the use of urinary chondroitin-4-sulfate/heparan sulfate ratio. *Nephron.* 1986; 42: 340.
31. **Ellis BG, Tucker SM, Thompson AE, et al.** Presence of serum and tissue forms of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in urine form patients with renal disease. *Clin. Chim. Acta.* 1975; 64: 195-202.

32. **Murata K.** Acidic glycosaminoglycans in human kidney tissue. *Clin. Chim. Acta.* 1975; 63: 157-160.
33. **Wells AS, Larson E, Tengblad A, et al.** The localization of hyaluronan in normal and rejected human kidney. *Transplantation.* 1990; 50: 240-243.
34. **Rodríguez Cuartero A, Pérez Blanco FJ, Campos M, et al.** Urinary excretion of glycosaminoglycans in patients with a renal transplant. *Clin. Nephrol.* 1997; 47: 274-276.
35. **Robertson WG, Peacock M, Meybourn PJ, et al.** Risk factors in calcium stone disease of the urinary tract. *Br. J. Urol.* 1978; 50: 449-454.
36. **Baggio B, Gambaro G, Oliva O, et al.** Calcium oxalate nephrolithiasis: an easy way to detect an imbalance between promoting and inhibiting factors. *Clin. Chim. Acta.* 1982; 124: 149-155.
37. **Crawford JE, Crematy EP, Alexander AE.** The effect of natural and synthetic polyelectrolits on the crystallisation of calcium oxalate. *Aust. J. Chem.* 1968; 21: 1067-1072.
38. **Roberston WG, Peacock M, Nordin BE.** Inhibitors of the growth and agregation of calcium oxalate crystals in vitro. *Clin. Chim. Acta.* 1973; 43: 31-37.
39. **Grasses F, Llompарт I, Conte A, et al.** Glycosaminoglycans and oxalcalcic urolithiasis. *Nephron.* 1994; 68: 449-453.
40. **Holmang S, Grenablo L, Hedellin H, et al.** Crystal adherence to rat bladder epithelium after long-term E. Coli infection. *Scand. J. Urol. Nephrol.* 1993; 27: 71-74.
41. **Ryall RL, Marshall VR.** The relationship between urinary inhibitory activity and endogenous concentrations of glucosaminoglycans and uric acid: comparison of urines from stone-formes and normal sujetos. *Clin. Chim. Acta.* 1984; 141: 197-204.
42. **Hesse A, Wuzel Vanlensieck W.** The excretion of glycosaminoglycans in the urine of calcium-oxalate-stone patients and healthy persons. *Urol. Int.* 1986; 41: 81-87.
43. **Gambaro G, Cicerello E, Marzaro G, et al.** A critical evaluation of the urinary inhibiting activity in idiopathic calcium oxalate nephrolithiasis. *Urol. Int.* 1986; 41: 418-421.
44. **Parsons CL, Stauffer C, Mulholland SG, et al.** Effect of ammonium on bacterial adherence to bladder trasitional epithelium. *J. Urol.* 1984; 132: 365-366.
45. **Kaufman JE, Anderson K, Parson CL.** Inactivation of antiandherence effect of bladder surface glycosaminoglycans as possible mechanism for carcinogenesis. *Urology.* 1987; 30: 255-258.
46. **Dietrich CP, Martins JR, Sampaio LO, et al.** Anomalous structure of urinary chondroitin sulfate from cancer patients. A potential new marker for diagnosis of neoplasias. *Lab. Invest.* 1993; 68: 439-445.
47. **Viberti GC, Jarret RJ, Mc Carney M, et al.** Increased glomerular permeability to albumin induced by exercise in diabetic subjects. *Diabetologia.* 1978; 14: 293-300.
48. **Mogensen CE, Christiansen CK.** Predicting diabetic nephropathy in insulin-dependent patients. *N. Engl. J. Med.* 1984; 311: 89-93.
49. **Broggel CG, Stevenson J, Hoving P, Linker A, Border WA.** Changes in heparan sulfate correlate with increased glomerular permeability. *Kidney Int.* 1988;33: 517-523.

50. **Waters PJ, Flynn MD, Corrall RJM, Pennock CA.** Increases in plasma lysosomal enzymes in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus: relationship to diabetic complications and glycaemic control. *Diabetologia*.1992; 35: 991-995.
51. **Baggio B, Briani G, Cicerello E, Gambaro G, Bruttomesso D, Tiengo A, Borsatti A, Crepaldo G.** Urinary glycosaminoglycans, sialic acid and lysosomal enzymes increase in nonalbuminuric diabetic patients. *Nephron*. 1986; 43: 187-190
52. **Cohen MP, Surma ML.** Sulphate incorporation into glomerular basement membrane glycosaminoglycans is decreased in experimental diabetes. *J. Lab. Clin. Med.* 1981;98:715-722.
53. **Breborowicz A Wiczrowska K, Martis L, et al.** Glycosaminoglycans chondroitin sulphate prevents loss of ultrafiltration during peritoneal dialysis in rats. *Nephron*. 1994; 67: 346-350.
54. **Brown DM, Klein DJ, Michael AF, et al.** 35-S glycosaminoglycan and 35-S glucopeptide metabolism by diabetic glomeruli and aorta. *Diabetes*. 1982; 31: 418-428.
55. **Bonavista N, Reed P, Donelli PV, et al.** The urinary excretion of heparan sulphate by juvenile and adult onset diabetic patients. *Connect. Tissues Res.* 1984; 13: 83-87.
56. **Pérez-Blanco FJ, Moreno Terribas G, Cantero Hinojosa J, Rodríguez Cuartero A.** Urinary excretion of glycosaminoglycans in patients with early diabetic nephropathy. *Nephron*. 1996; 73: 344-345.
57. **Monciotti C, Oliva O, Gambaro G, et al.** Glycosaminoglycan urinary excretion in young diabetic patients. *En: Pediatric and Adolescent Endocrinology*.1989: 18.
58. **Bonavista N, Reed P, Donnelly PV, et al.** The urinary excretion of heparan sulfate by juvenile and adult onset diabetic patients. *Connect Tissue Res.* 1984; 13: 83-87.
59. **Jenssen T.** Pathogenesis of diabetic vascular disease: evidence for the role of reduced heparan sulfate proteinoglycans. *Diabetes*. 1997; 46,supl.2: S98-S100.
60. **Karasawa R, Nishi S, Suzuki Y, et al.** Early increase of chondroitin sulfate glycosaminoglycan in the glomerular basement membrane of rats with diabetic glomerulopathy. *Nephron*. 1997; 76: 62-71.
61. **Yokoyama H, Hoyer PE, Hansen AM, et al.** Immunohistochemical quantification of heparan sulfate proteinoglycan of collagen IV in skeletal muscle capillary basement membrans of patients with diabetic nephropathy. *Diabetes*. 1997; 46:1875-1880.
62. **Arumughan R, Bose SM.** Effect of indomethacin and naproxen on the metabolism of glycosaminoglycas. *Scand. J. Rheumatol.* 1980; 11: 225-229.
63. **Turtle JR.** The effects of cyclooxygenase and lipooxygenase inhibitos on the collagen abnormalities of diabetic rats. *Diabetes*. 1985; 34: 74-78.
64. **Sharma S, Vaidyanathan S, Thind SK, et al.** The effect of diclofenac sodium on urinary concentration of calcium, uric acid and glycosaminoglycans in traumatic paraplegis. *Br. J. Urol.* 1991; 68: 240-242.
65. **Vriesendorp R, Donler AJM, Zeeuw D, et al.** Effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs on proteinuria. *Am. J. Med.* 1986; 81: 84-94.
66. **Hommel E, Mathiesen E, Arnold-Larsen S, et al.** Effects of indomethacin on proteinuria and kidney function in the nephrotic syndrome. *Acta. Med. Scand.* 1976; 199: 121-125.

67. **Baggio B, Briani G, Cicerello E, et al.** Effects of imidazole-2-hydroxibenzoate on glycosaminoglycan and albumin urinary excretion in type I diabetic patients. *Nephron*. 1988; 50:45-49.
68. **Gambaro C, Cavazzana AO, Luzi P, et al.** Glycosaminoglycans prevent morphological renal alteration and albuminuria in diabetic rats. *Kidney Int.* 1992; 42: 285-291.
69. **Gambaro C, Venturine AP, Noonan DM, et al.** Treatment with a glycosaminoglycans formulation ameliorates experimental diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 1994; 46: 797-806.
70. **Myrup B, Hansen PM, Jensen T, et al.** Effect of low-dose heparin on urinary albumin excretion in insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet.* 1995; 345: 421-422.
71. **Hotz P, Pilliød J, Berode M, et al.** Glycosaminoglycans, albuminuria and hydrocarbon exposure. *Nephron.* 1991; 58: 184-191.
72. **Segni G, Romano C, Tortorolo G.** Diagnostic test for gargolism. *Lancet.* 1964; 2: 240.
73. **Anderson S, Meyer TW, Rennke HG.** Control of glomerular hypertension limits glomerular injury in rats with reduced renal mass. *J. Clin. Invest.* 1985; 76: 612-619.
74. **Weisstuch JM, Dworkin LD.** Does essential hypertension cause endstage renal failure kidney *Int.* 1992; 41: (supl. 36): S33-S37.
75. **Reunertson RH, Parmley RT, Rden L, et al.** Proteoglycans and hypertension. *Coll. Relat. Res.* 1986; 6: 77-101.
76. **Lipke DW, Couchman JR.** Increased proteinoglycan synthesis by the cardiovascular system of coarctation hypertensive rats. *J. Ceil. Physiol.* 1991; 147: 479-486.
77. **Simon G, Abraham G, Altman S.** Stimulation of vascular glycosaminoglycans synthesis by subpressor angiotensin II in rats. *Hypertension.* 1994; 23 (supl. 1): I 148-I 151.
78. **Fuchs W, Beck M, Krese H.** Intralysosomal formation and metabolic fate of N-acetyl- $\beta$ -glucosamine 6 sulphate from keratan sulphate. *Eur. J. Biochem.* 1985; 151: 551-556.
79. **Pérez Blanco FJ, Morales Camacho C, Miras Parra FJ, Rodríguez Cuartero A.** Urinary glycosaminoglycans and their relationship to microalbuminuria in arterial hypertension. *Nephron.* 1998 (en prensa).
80. **Tanaka Y, Takazono I.** Isolation and characterization of peptidoglycans in urine from patients with mucopolysaccharidoses. *Int. J. Biochem.* 1984; 16: 435-446.
81. **Nielsen JB, Guttler F, Hobolth N, et al.** Normal excretion of urinary acid mucopolysaccharides in a boy with iduronate sulphate deficiency, Hunter phenotype and  $\alpha_1$ -antitrypsin deficiency. *Eur. J. Pediatr.* 1986; 145: 572-575.
82. **Berry HK.** Screening for mucopolysaccharide disorder with the Berry spot test. *Clin. Biochem.* 1987; 20: 365-371.
83. **Tokoro T, Eto Y.** Increased urinary excretion of acid mucopolysaccharides and glycopeptides in hypothyroidism following thyroid hormone therapy. *Eur. J. Pediatr.* 1985; 144: 84-86.
84. **Nikiforovskaia LF, Ivanova LN.** Glikozaminoglikany i glikangidrolazy v pochkre krys s nasledstvennym nesakharnym diabetom. *Vopr. Med. Khim.* 1987; 33: 91-96.

85. Todorova S, Antov G, Levis, et al. Urinary excretion of glycosaminoglycans in patients with postmenopausal osteoporosis. *Hormon. Metab. Res.* 1992; 24: 585-587.
86. Krajickova J, Macek J, Medova N, et al. Vylučovací degradacních produktu proteoglykanu moci u nemocných revmatoidní artritidou a osteoartrózou. *Vnitr. Lek.* 1987; 33: 129-133.
87. Kery V, Orłowska M, Stacinkova N, et al. Urinary glycosaminoglycan excretion in rheumatic diseases. *Clin. Chem.* 1992; 38: 841- 846.
88. Elaev NR, Bakhtiarova KZ. Anormal'naiia ekskretsiia glikozaminoglikanov u bol'nykh siringomieliie. *Biull. Eksp. Biol. Med.* 1992; 114: 271-272.
89. Elaev NR, Safin SHM, Borisova NA, et al. Glicozaminoglikany pri siringomieliie. *Vopr. Med. Khim.* 1992; 38: 13-15.

## CAPITULO 6

### BETA-GLUCURONIDASA.

El conocimiento de este enzima se remonta a los comienzos del presente siglo al demostrarse su presencia y acción en diversos jugos vegetales, consiguiendo la separación del ácido fenil-glucurónico y la hidrólisis de compuestos glucurónicos del alcanfor, mentol, etc<sup>1,2</sup>. En años posteriores se consiguió demostrar estas mismas acciones sobre extractos de órganos animales, especialmente sobre el hígado, bazo y riñones<sup>3,4,5</sup>. En 1940 se inicia una etapa decisiva en el conocimiento del enzima en la que surge con excepcional relieve la figura de FISHMAN quien la aísla, purifica y además, describe un método personal de determinación. FISHMAN propuso, y se aceptó mundialmente la denominación abreviada de beta-glucuronidasa para la beta-glucurónido-glucurono-hidrolasa que figura en el Código Internacional de Enzimas con las siglas EC 3.2.1.31.

#### FUNCIONES EN EL ORGANISMO.

##### *FUNCION HIDROLASA.*

La que le caracteriza y clasifica dentro de los enzimas. En virtud de su acción catalítica separa ácido glucurónico de los beta-delta glucurónidos alifáticos y aromáticos y así mismo puede desempeñar la hidrólisis de numerosas hormonas y catabolitos hormonales que se conjugan con el ácido glucurónico (pregnandiol, estradiol, diversos corticosteroides, etc.). Este importante efecto catalítico fue demostrado por FISHMAN y numerosos colaboradores utilizando substratos naturales obtenidos de la orina<sup>6,7,8</sup>. El rendimiento en productos desdoblados, sales del ácido glucurónico y un resto aglicón, fue superior en un 20% a la potente acción hidrolítica del ácido clorhídrico ensayado paralelamente.

##### *FUNCION TRANSFERASA.*

Los organismos animales tienen que bloquear numerosas sustancias que pueden considerarse tóxicas y que tienen una doble procedencia:

a.- Interna, representada por numerosos metabolitos resultantes de las múltiples reacciones orgánicas.

b.- Externa, especialmente productos tóxicos (generalmente medicamentos) que se administran en el tratamiento de las enfermedades u, ocasionalmente, son ingeridos por error o intento de autólisis. Para evitar su acción el organismo dispone de multitud de mecanismos de biotransformación o detoxificación que se fundamentan en cuatro reacciones químicas principales: oxidación, reducción, hidrólisis y síntesis. En todas ellas, pero especialmente en los procesos de síntesis o conjugación con intervención de la betaglucuronidasa, juega el ácido glucurónico. Se conocen al menos ochenta sustancias que son neutralizadas, se conjugan o eliminan por éste mecanismo, reacciones que se

producen por la primordial intervención de la enzima Uridín-difosfo-glucuronil transferasa (UDP-glucuronil transferasa), camino habitual en los procesos de conjugación y de cuyos conocimientos tenemos noticias gracias a los pioneros estudios de DUTTON<sup>9</sup>, STOREY<sup>10</sup> y STROMINGER<sup>11</sup>. Una posible acción transferasa a cargo de la Beta-glucuronidasa es defendida por algunos autores, aunque desde luego muy secundaria. Diversos resultados experimentales parecen contribuir a ésta afirmación. Así FLORKIN y cols<sup>12</sup> demostraron la síntesis "in vitro" del ácido bornil-glucurónico en un sistema que contenía beta-glucuronidasa, puffer, borneol y ácido glucurónico. Ello demostró que el enzima catalizaría la condensación; la cantidad de ácido glucurónico sintetizada en la prueba fue muy pequeña a pesar de que el tiempo de incubación fue largo aunque, a juicio de los autores, la conclusión es definitiva. FISHMAN<sup>13,14</sup> señala el aumento de la beta-glucuronidasa hepática cuando se aportan sustancias que se eliminan en condiciones normales como glucurónidos. Posteriormente comprobó "in vitro" que tanto la beta-glucuronidasa hepática como la obtenida de cultivos de Escherichia coli podían transferir el radical ácido de diversos glucurónidos a alcoholes cíclicos, observaciones que han sido confirmadas por YOSHIDA y cols<sup>15</sup>. Por el contrario la capacidad hepática de sintetizar glucurónidos disminuye considerablemente "in vivo" por la acción de sustancias inhibitoras de la beta-glucuronidasa.

El mecanismo principal de glucuronoconjugación a cargo del enzima específico UDP-glucuronil transferasa y el secundario por acción de la beta-glucuronidasa, se puede representar de acuerdo con el esquema de DORHMAN<sup>16</sup>. Una expresión simplificada de ambas acciones se puede representar de la forma que a continuación exponemos:

### 1 HIDROLASAS:



### 2 TRANSFERASAS:



Que demuestra los procesos metabólicos catalizados por la beta-glucuronidasa.

A y B son agliconas diferentes, G resto de ácido glucurónico. El hecho más interesante a destacar de esta doble función de la enzima, aún cuando una de ellas (función hidrolasa) es la fundamental, deriva de que de la concurrencia y sumación de ambas puede resultar una importantísima misión en diversos procesos metabólicos, en el sentido de ser un mecanismo regulador de la actividad realizada por numerosas hormonas, especialmente las de origen gonadal. Un aumento de glucurónidos conjugados hormonales producirían o inducen la producción de enzimas que por su efecto hidrolítico sería antagónico de una hiperproducción y al contrario, un descenso del enzima determina un efecto inverso.

### **HETEROGENEIDAD.**

Los trabajos de MASUME<sup>17</sup>, OSHIMA<sup>18</sup> Y FISHMAN<sup>6,7,8</sup> coinciden en que sólo hay un enzima beta-glucuronidasa con un pH óptimo entre 4,5-5,2. Sin embargo,

posteriormente MILLS<sup>19</sup> ha obtenido a partir del bazo del buey, dos fracciones de beta-glucuronidasa con un pH óptimo de 4,5 y 5,2 respectivamente.

De acuerdo con la especificidad de precipitación de fracciones proteicas por el método del sulfato amónico, COHN<sup>20</sup> aplicándolo a aquel estudio determina que una fracción precipita con las globulinas gamma y la otra con las beta y gamma globulinas de forma conjunta.

Los estudios de DOHRMANN<sup>1,21</sup> con preparados enzimáticos comerciales de hígado de ternera demuestran, utilizando técnicas electroforéticas, la presencia de tres fracciones proteicas de las que sólo la más lenta tiene acción enzimática migrando con las beta globulinas. Este mismo autor ha observado en el tumor ascítico de ERLICH del ratón, una elevada actividad en la fracción beta globulina con una acción hidrolítica muy marcada y así mismo, otra fracción con acción enzimática ligada a las alfa-globulinas. Estos datos suponen un nuevo camino de trabajo ante la posible presencia de isoenzimas de la beta glucuronidasa y su identificación según del órgano que procedan. En el futuro por tanto, las modificaciones de la actividad enzimática del suero (u otros fluidos biológicos) en circunstancias patológicas, puede suponer una interesante aplicación diagnóstica en la localización y topografía, de acuerdo con los organos afectados (corazón, pulmones, hígado, etc.) como ocurre con la mayoría de las enzimas de aplicación cotidianas (amilasa, creatin-kinasa, láctico-deshidrogenasa, etc.).

## HORMONAS Y BETA-GLUCURONIDASA.

Se ha demostrado que existe una estrecha relación entre la actividad sérica de la beta-glucuronidasa y la concentración de determinadas hormonas (tiroideas, gonadales, etc.), aunque la intimidad de las relaciones entre ellas permanece en la oscuridad por lo que las deducciones son, mayoritariamente empíricas. Analizaremos los principales aspectos de las relaciones:

### 1. Beta-glucuronidasa y hormonas estrogénicas:

El enzima beta-glucuronidasa está acentuadamente disminuido en el tejido uterino de ratas oforectomizadas, experimentando un considerable ascenso tras la administración de estrógenos<sup>22,23</sup>, aumento que se hace extensivo a otros órganos (vagina, glándulas mamarias)<sup>24,25</sup>. Se ha descrito que en el macho se produce el mismo fenómeno en las vesículas seminales, próstata, glándulas prepuciales y también en las glándulas adrenales<sup>26,27</sup>. En el suero de la mujer embarazada (también en otros fluidos biológicos) se ha demostrado un aumento progresivo de la actividad de la beta-glucuronidasa, hasta cuatro veces por encima de la normalidad en los últimos meses de la gestación. Después del parto y en los primeros días del postparto, disminuye la actividad enzimática hasta alcanzar la normalidad<sup>28</sup>. Esto también ocurre en la mayor parte de los tejidos. La sensibilidad del enzima a las modificaciones de la concentración de estrógenos, es tal que incluso se manifiesta en las distintas fases del ciclo menstrual<sup>29</sup>. El aumento no es debido a la beta-glucuronidasa placentaria (la placenta es muy rica en éste enzima) ya que ésta no pasa a la sangre circulante e, incluso en el feto la actividad de la beta-glucuronidasa es la del adulto normal.

## 2. Beta-glucuronidasa y andrógenos.

FISHMAN y cols<sup>30</sup> han encontrado que la administración de testosterona determina aumento de la beta-glucuronidasa principalmente en el riñón y en las vesículas seminales y con mucho menos intensidad en el hígado. El mismo efecto consiguieron PETTENGIL y cols<sup>31</sup> tras la administración de gonadotrofinas hipofisarias. Finalmente es conveniente señalar que hay un peculiar efecto antagónico entre los estrógenos y los andrógenos. Así mientras el etilbestrol se opone a los efectos androgénicos sobre la beta glucuronidasa renal, los andrógenos no se oponen a la acción de los estrógenos en los mismos casos.

## 3. Beta-glucuronidasa y hormonas tiroideas.

Trabajos iniciales de japoneses<sup>32</sup> y españoles<sup>33,34</sup> han demostrado clínica y experimentalmente que el aumento de la función tiroidea (Enfermedad de Graves-Basedow) se acompaña de aumento de la actividad sérica de la beta-glucuronidasa y que ratas hipotiroideas por acción del tiouracilo, sulfocianuro potásico o tras tiroidectomía presentan actividades enzimáticas descendidas (más bajas que los controles normales). De la misma forma se comportan los humanos con hipertiroidismo y mixedema. El hecho ha sido confirmado por otros autores y no sólo con la beta-glucuronidasa, sino también con otros enzimas lisosómicos (N-acetil-beta-glucosaminidasa, alfa-glucosidasa, etc.)<sup>35</sup>.

## FACTORES QUE INFLUENCIAN LA ACTIVIDAD DE LA BETA-GLUCURONIDASA.

La actividad enzimática de la beta-glucuronidasa, al igual que la de otros enzimas, está sometida a numerosas influencias. Analizaremos las de mayor interés:

a) El pH óptimo oscila entre 4,5 y 5,2 aunque algunas isoenzimas tienen otro pH óptimo, en éste caso nos referimos a la beta-glucuronidasa humana. En un reciente estudio de DENT<sup>36</sup> donde se analiza la estabilidad de varios enzimas lisosómicos en el suero se llega a la conclusión de que el enzima más estable es la beta-glucuronidasa, sobre todo si se acidifica el suero o plasma.

b) **Temperatura:** la óptima es la del cuerpo humano (37°C) aunque en la mayoría de las técnicas de determinación se utilizan los 50°C para acelerar los procesos hidrolíticos.

c) **Concentración del sustrato:** la acción hidrolítica aumenta de forma lineal a la concentración aunque dentro de unos límites, pasados los cuales el exceso de sustrato puede actuar como inhibidor. Por tanto dentro de esos límites, puede considerarse que la cinética es una reacción de orden cero.

d) **Concentración del enzima:** con actividades enzimáticas determinadas (altas) se produce una disminución de dicha actividad, lo que se interpreta como un fenómeno de disociación en componentes inactivos.

e) **Inhibidores:** Son muchos y de muy diversa índole:

1) *Inespecíficos:* tales como el ácido cítrico y los ácidos hidroxicarboxílicos<sup>5</sup> y la heparina<sup>37</sup>, que a una concentración del 0.4% inhibe al enzima en un 50%. La inhibición es de tipo competitivo o no competitivo, según el pH del medio. Otros inhibidores no específicos son la hialuronidasa, tiroxinasa, flavonoides, rutina, sales de metales pesados (mercurio, plata, etc) que actúan produciendo un precipitado proteico. El ácido ascórbico a dosis de 1 g/día, también tiene acción inhibidora ya que se reduce la actividad de la betaglucuronidasa en un 25%<sup>38</sup>.

2) *Específicos:* el más importante de todos es el ácido sacárico y sus derivados, aunque la inhibición sólo se ha demostrado "in vitro". La disacarolactona tiene en cambio, también acción inhibidora "in vivo" y por tanto para la beta-glucuronidasa de origen animal como es la bacteriana, tan importante es ésta acción inhibidora específica que BOYLAND<sup>39</sup> llegó a recomendar el uso profiláctico de la disacarolactona en los trabajadores de las industrias químicas para evitar el desarrollo del cáncer de vejiga. No se conoce con certeza la existencia de un inhibidor endógeno presente en el suero, aunque se cree que es una proteína termoestable y no dializable.

f) **Activadores:** activan el enzima la seroalbúmina bovina, el DNA de distintos orígenes (timo, esperma de pescado), gelatina, quimotripsina, ciertos aminoácidos (lisina, ornitina). En el caso concreto del DNA la acción activadora, puede alcanzar una intensidad del 100%<sup>40</sup>. Algunas proteínas inactivadas por el calor se muestran como activadores por lo que se considera que tal factor tiene carácter termoestable<sup>41</sup>. El mecanismo íntimo de la acción activadora no es bien conocido, aunque podría estar representado por la recombinación de los productos inactivos procedentes de la disociación del enzima, es decir, a partir de una auténtica reconstitución<sup>42,43</sup>.

## LA BETA-GLUCURONIDASA EN LOS ORGANISMOS VIVOS.

El enzima beta-glucuronidasa fue descubierta en tejidos vegetales<sup>2,3</sup>, aunque son los organismos animales y en las bacterias donde se encuentra en mayor abundancia hasta tal punto que en algunos organismos inferiores (insectos, moluscos) son la fuente de obtención del enzima que se utiliza con fines industriales en la hidrólisis de hormonas esteroideas combinadas con glucurónidos. Las bacterias más ricas en beta-glucuronidasa son el *Escherichia coli* y el *Hoffmani*<sup>44</sup>.

En la especie humana la riqueza enzimática es la que se expone en la Tabla II, datos obtenidos por diversos autores a partir de órganos y fluidos humanos valorados en cifras arbitrarias basándose en la hidrólisis del ácido fenol-taleín-B-D-glucurónico<sup>45</sup>.

En los fluidos orgánicos humanos además del suero, la beta-glucuronidasa se encuentra en la orina, saliva, jugos digestivos, líquido pleural y pericárdico, líquido céfalo-raquídeo, etc. En los elementos celulares de la sangre es especialmente abundante en los linfocitos y monocitos, también se encuentra en las plaquetas y se libera en los

procesos de la hemostasia, incluso se cree que tiene una ligera acción fibrinolítica. En los hematíes la actividad es muy baja ya que no siempre se puede demostrar.

### DISTRIBUCION INTRACELULAR.

Fue CAMPBELL<sup>46,47</sup> el primero que demostró que la beta-glucuronidasa se encuentra en las mitocondrias. WALKER<sup>48,49</sup> en 1952 la identifica en "partículas sobrenadantes del citoplasma", pero han sido los trabajos de DUVE<sup>50,51</sup> los que demostraron la presencia de ésta enzima en los lisosomas junto con otras hidrolasas, tales como la ribonucleasa, colagenasa, alfa-glucosidasa, aril-sulfatasas, fosfatasa ácida, N-acetil- $\beta$ -glucosaminidasa, etc. BARTALOS<sup>52</sup> estudiando las fracciones enzimáticas tisulares humanas, determina las distintas proporciones de la distribución de dichas fracciones. Así por ejemplo en la glándula mamaria la fracción A o fracción lisosomal es muy rica mientras que en el pulmón es más abundante la fracción B o mitocondrial aunque, este mismo autor en tejidos neoplásicos mamarios y pulmonares, ha demostrado que el aumento se hace a expensas de la fracción lisosomal. Actualmente se admite que las fracciones de la beta-glucuronidasa se distribuyen de la forma siguiente:

- Localización lisosómica: 50%.
- Localización mitocondrial: 45%.
- Fracción libre citoplasmática: 5%.

En la Tabla III se exponen los enzimas que se han detectado en los lisosomas.

## TABLA II

## DISTRIBUCION ORGANICA DE LA BETA GLUCURONIDASA

ORGANO / FLUIDO BIOLÓGICO	ACTIVIDAD
<i>Hígado</i> .....	3.000-11.000
<i>Riñón</i> .....	2.000-7.000
<i>Pulmones</i> .....	500
<i>Páncreas</i> .....	600
<i>Bazo</i> .....	6.500
<i>Estómago</i> .....	200-1.000
<i>Placenta</i> .....	500-2.000
<i>Esófago</i> .....	400-700
<i>Ovario</i> .....	300-600
<i>Colon</i> .....	2.000
<i>Recto</i> .....	2.000
<i>Pene</i> .....	300
<i>Vagina</i> .....	100-800
<i>Parótida</i> .....	1.500
<i>Piel</i> .....	200
<i>Orina</i> .....	1-10
<i>Plasma</i> .....	1-10
<i>LCR</i> .....	0.3
<i>Esperma</i> .....	350
<i>Saliva</i> .....	<i>Indicios</i>

### TABLA III

#### ENZIMAS PRESENTES EN LOS LISOSOMAS

DENOMINACIÓN DE LA ENZIMA	CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL
<i>Fosfatasa ácida</i> .....	3.1.3.2
<i>Ribonucleasa</i> .....	2.7.7.16
<i>Desoxirribonucleasa ácida</i> .....	3.1.4.6
<i>Beta-glucuronidasa</i> .....	3.2.1.31
<i>Catepsina</i> .....	3.4.4.9
<i>Arilsulfatasas</i> .....	3.2.6.1
<i>Beta-galactosidasa</i> .....	3.2.1.23
<i>N-acetil-beta-glucosaminidasa</i> .....	3.2.1.29
<i>Alfa-manosidasa</i> .....	3.2.1.24
<i>Colagenasa</i> .....	3.4.4.19
<i>Alfa-glucosidasa</i> .....	3.2.1.20
<i>Hialuronidasa</i> .....	4.2.99.1
<i>Fosfatasa ácida</i> .....	3.1.3.4

**TABLA III (Continuación)**

**ENZIMAS PRESENTES EN LOS LISOSOMAS**

DENOMINACIÓN DE LA ENZIMA	CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL
<i>Fosfoprotein fosfatasa</i> .....	3.1.3.16
<i>Lipasa ácida</i> .....	3.1.1.3
<i>Beta esterasa</i> .....	3.1.1.1
<i>NADH2 Citocromo C reductasa</i> .....	1.6.99.3
<i>Aminopeptidasa A</i> .....	3.4.1.2
<i>Dextranasa</i> .....	3.2.1.11
<i>Sacarasa</i> .....	3.2.1.26
<i>Muramidasa ( Lisozima )</i> .....	3.2.1.17
<i>Fosfolipasa A</i> .....	3.1.1.4
<i>ATP-asa</i> .....	3.6.1.3
<i>Beta-glucosidasa</i> .....	3.2.1.21
<i>Beta- galactosidasa</i> .....	3.2.1.23

## **BETA-GLUCURONIDASA URINARIA**

La beta-glucuronidasa es un enzima que se encuentra en la orina normal, originándose a partir del enzima que se libera de los lisosomas de los túbulos renales ya que, en circunstancias normales por su pH elevado no atraviesa la membrana glomerular. En situaciones patológicas aumenta la excreción urinaria por lo que puede utilizarse como índice de enfermedad renal. La actividad urinaria se influencia por numerosos factores, teniendo especial interés los activadores e inhibidores.

### **a) Activadores.**

Como tales actúan numerosas sustancias, así el citosán, protamina, albúmina humana, DNA de salmón del timo y del esperma de pescado, la gelatina, algunos aminoácidos como la ornitina y la lisina.

### **b) Inhibidores.**

Son numerosos y tienen mucho más interés que los activadores al encontrarse en condiciones fisiológicas y también en la enfermedad renal. Inhibidores inespecíficos son el ácido cítrico, ácido sacárico, ácido múxico, D-glucurono-lactona, heparina, hialuronidasa, tirosinasa, cloroformo, flavonoides, quercetina, sales de plata y de mercurio, etc. Inhibidores específicos son: otros glucurónidos<sup>53</sup>, el ácido glutárico<sup>54</sup>, sácara-1-4-lactona<sup>55</sup>. EL I-H y II-H descritos por SAKAMOTO Y NISHIKAZE<sup>56</sup> en la orina de mujer embarazada por técnicas cromatográficas en columna de Sephadex y por cromatografía de celulosa DEAE.

Gran importancia desde el punto de vista clínico, tiene la sácara-1-4-lactona en orden a la prevención del cáncer de vejiga<sup>55</sup>, muy frecuente especialmente en los trabajadores de las industrias químicas.

## **ORIGEN DE LA BETA-GLUCURONIDASA URINARIA.**

Son numerosos los autores que se han ocupado de intentar aclararlo, aunque quedan aún numerosos puntos oscuros. FRIPP<sup>57</sup> señala las siguientes posibilidades:

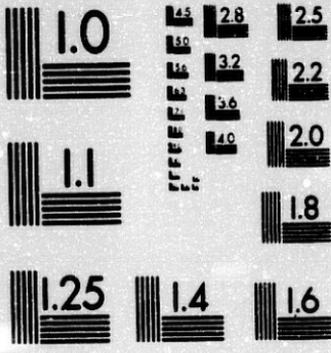
- Que se filtre a través del glomérulo.
- Que se segregue activamente por los túbulos.
- Que sea un enzima segregada por el epitelio del uréter y de la vejiga urinarios.
- Que las células desprendidas al lisarse, liberarían la beta-glucuronidasa que contienen.

Como modelo experimental ha utilizado el mono VERVET cuya histología del sistema urinario es muy similar a la humana. Mediante diversos procedimientos técnicos FRIPP ha determinado:

- Que la actividad de la beta-glucuronidasa de la orina que ha estado en contacto con el epitelio de la vejiga es más alta que la obtenida directamente del uréter.
- Colocando suero glucosalino en la vejiga, previa ligadura de los uréteres, la beta glucuronidasa urinaria aumenta en relación directamente proporcional con la duración que el suero había estado en contacto con el epitelio de la vejiga.
- Histológicamente el epitelio y las capas musculares de los uréteres y de la vejiga, tenían actividad muy elevada de beta glucuronidasa no en cambio, la capa submucosa.

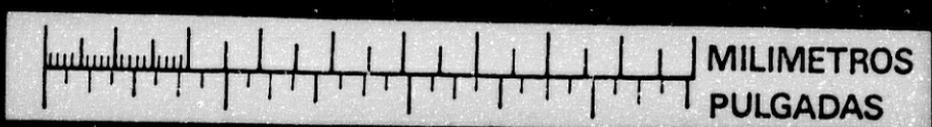
Todos estos datos le llevan a concluir que la beta-glucuronidasa tiene un doble

# ETD



MICROCOPY RESOLUTION TEST CHART  
NATIONAL BUREAU OF STANDARDS  
STANDARD REFERENCE MATERIAL 1010a  
(ANSI and ISO TEST CHART No. 2)

# 1:24



## **BETA-GLUCURONIDASA URINARIA**

La beta-glucuronidasa es un enzima que se encuentra en la orina normal, originándose a partir del enzima que se libera de los lisosomas de los túbulos renales ya que, en circunstancias normales por su pH elevado no atraviesa la membrana glomerular. En situaciones patológicas aumenta la excreción urinaria por lo que puede utilizarse como índice de enfermedad renal. La actividad urinaria se influencia por numerosos factores, teniendo especial interés los activadores e inhibidores.

### **a) Activadores.**

Como tales actúan numerosas sustancias, así el citosán, protamina, albúmina humana, DNA de salmón del timo y del espermatozoide de pescado, la gelatina, algunos aminoácidos como la ornitina y la lisina.

### **b) Inhibidores.**

Son numerosos y tienen mucho más interés que los activadores al encontrarse en condiciones fisiológicas y también en la enfermedad renal. Inhibidores inespecíficos son el ácido cítrico, ácido sacárico, ácido mícico, D-glucurono-lactona, heparina, hialuronidasa, tirosinasa, cloroformo, flavonoides, quercetina, sales de plata y de mercurio, etc. Inhibidores específicos son: otros glucurónidos<sup>53</sup>, el ácido glutárico<sup>54</sup>, sácaro-1-4-lactona<sup>55</sup>. EL I-H y II-H descritos por SAKAMOTO Y NISHIKAZE<sup>56</sup> en la orina de mujer embarazada por técnicas cromatográficas en columna de Sephadex y por cromatografía de celulosa DEAE.

Gran importancia desde el punto de vista clínico, tiene la sácaro-1-4-lactona en orden a la prevención del cáncer de vejiga<sup>55</sup>, muy frecuente especialmente en los trabajadores de las industrias químicas.

## **ORIGEN DE LA BETA-GLUCURONIDASA URINARIA.**

Son numerosos los autores que se han ocupado de intentar aclararlo, aunque quedan aún numerosos puntos oscuros. FRIPP<sup>57</sup> señala las siguientes posibilidades:

- Que se filtre a través del glomérulo.
- Que se segregue activamente por los túbulos.
- Que sea un enzima segregada por el epitelio del uréter y de la vejiga urinarios.
- Que las células desprendidas al lisarse, liberarían la beta-glucuronidasa que contienen.

Como modelo experimental ha utilizado el mono VERVET cuya histología del sistema urinario es muy similar a la humana. Mediante diversos procedimientos técnicos FRIPP ha determinado:

- Que la actividad de la beta-glucuronidasa de la orina que ha estado en contacto con el epitelio de la vejiga es más alta que la obtenida directamente del uréter.
- Colocando suero glucosalino en la vejiga, previa ligadura de los uréteres, la beta glucuronidasa urinaria aumenta en relación directamente proporcional con la duración que el suero había estado en contacto con el epitelio de la vejiga.
- Histológicamente el epitelio y las capas musculares de los uréteres y de la vejiga, tenían actividad muy elevada de beta glucuronidasa no en cambio, la capa submucosa.

Todos estos datos le llevan a concluir que la beta-glucuronidasa tiene un doble

origen: uno de mayor importancia, el riñón y otro de menor interés, el epitelio de los uréteres y de la vejiga siendo éste, mucho más importante que el ureteral en razón de que la vejiga es zona de almacenamiento (contacto prolongado).

### BETA-GLUCURONIDASA URINARIA EN CONDICIONES NORMALES:

La mayoría de los enzimas urinarios al igual que los séricos modifican su actividad, de acuerdo con la edad y el sexo. En la Tabla IV tomada de MARUHN<sup>58</sup> se exponen los datos sobre beta-glucuronidasa urinaria.

VANDERJAGT<sup>59</sup> no ha obtenido ninguna diferencia entre niños y adultos jóvenes para la beta-glucuronidasa y otros enzimas lisosomales de la orina. En suero VILCHEZ, RODRIGUEZ CUARTERO Y NUÑEZ<sup>60</sup> han comprobado un aumento de la actividad conforme la edad avanza. Tras ejercicio físico extenuante ROINE<sup>61</sup> y tras la acción de las temperaturas elevadas (sauna finlandesa) se ha demostrado aumento de la eliminación urinaria de hexosaminidasa y beta-glucuronidasa, mientras que la LDH y la LAP no se modifican. En la gestación normal también aumenta la eliminación urinaria de hidrolasas lisosomales (al igual ocurre en el suero), hecho explicable por la regulación e influencia hormonal sobre el enzima.

El hecho ha sido también demostrado en animales de experimentación -ratas-<sup>62</sup>, en suero, tejido endometrial de macacus Rhesus<sup>24</sup> y en mujeres gestantes<sup>63</sup> a término y en el postparto<sup>64</sup>, circunstancias fisiológicas en las que también está aumentada la beta-glucuronidasa sérica.

**TABLA IV**  
**ACTIVIDAD BETA GLUCURONIDASA URINARIA NORMAL:**  
**DIFERENCIAS SEGUN SEXO<sup>58</sup>.**

	<i>mU/3 h</i>			
	<i>Percentiles</i>			
<i>197.5</i>	<i>2.5</i>	<i>5.0</i>	<i>50.0</i>	<i>95.0</i>
<i>Hombres</i>	<i>423</i>	<i>546</i>	<i>1188</i>	<i>1830</i>
<i>Mujeres</i>	<i>231</i>	<i>355</i>	<i>1017</i>	<i>1841</i>
	<i>U/g creatinina</i>			
<i>Hombres</i>	<i>2.57</i>	<i>3.08</i>	<i>5.79</i>	<i>8.52</i>
<i>Mujeres</i>	<i>3.10</i>	<i>3.66</i>	<i>6.89</i>	<i>12.10</i>

## BETA-GLUCURONIDASA URINARIA EN LA ENFERMEDAD

En 1959 GOLDBARG y cols<sup>65</sup> aportan un método para la determinación de la beta-glucuronidasa en suero, orina y tejidos y lo ensayan en 300 sueros y 100 orinas de controles normales y en 500 sueros patológicos y 359 orinas de enfermos (orina recogida durante 24 horas). Los autores llegaron a la conclusión de que la beta-glucuronidasa urinaria no tiene ninguna relación con la actividad de la del suero y que la beta-glucuronidasa que se encuentra en la orina es de origen tubular y del epitelio del tracto urinario. Desde este trabajo princeps de GOLDBARG al estudio de la beta-glucuronidasa urinaria se le ha dado gran importancia, especialmente en el diagnóstico de la patología neoplásica del riñón y vías excretoras.

### 1. BETA-GLUCURONIDASA URINARIA EN ENFERMEDADES EXTRARRENALES.

#### A) Diabetes Mellitus.

Uno de los principales órganos que se afectan en la diabetes mellitus es el riñón, por lo que es necesario contar con un marcador de daño renal precoz en esta enfermedad. Actualmente las líneas de investigación de la nefropatía diabética se orientan hacia un diagnóstico lo más temprano posible, única forma de mejorar el pronóstico.

La microalbuminuria<sup>66</sup>, alfa-1 microglobulina<sup>73</sup>, beta-2-microglobulina<sup>74</sup> y N-acetil- $\beta$ -glucosaminidasa<sup>67</sup> son los parámetros más frecuentemente analizados en el diagnóstico precoz de la nefropatía diabética.

La beta-glucuronidasa apenas ha sido estudiada. MARUHN<sup>75</sup> indica que cuando hay aumento del enzima es porque existe hipertensión arterial y es signo de mal pronóstico. RAO<sup>68</sup> encuentra también niveles elevados de beta-glucuronidasa cuando el paciente diabético tiene complicaciones y está en relación con el tiempo de evolución de la diabetes.

Recientemente RODRIGUEZ CUARTERO y BARCELONA MARTIN<sup>69</sup> han observado que la excreción de beta-glucuronidasa aumenta de forma llamativa cuando hay daño tubular pero que también se produce ascenso del enzima como consecuencia de la lesión glomerular, fundamentalmente a nivel de la membrana basal glomerular.

En recién nacidos de madres diabéticas hay un aumento del enzima urinario sobre todo en aquellos casos en que las madres tuvieron un mal control metabólico en la última etapa de la gestación<sup>70</sup>. Muchos de los enzimas lisosómicos, entre ellos la beta-glucuronidasa, se alteran en los pacientes diabéticos que están descontrolados metabólicamente<sup>71</sup> y se ha establecido una correlación entre la beta-glucuronidasa y la hemoglobina glicosilada<sup>72</sup>.

#### B) Hipertensión arterial.

La hipertensión arterial repercute especialmente las formas más severas, en el riñón;

del mismo modo el riñón es una de las causas de hipertensión arterial secundaria. Los enzimas urinarios (también otras proteínas) han sido estudiados para determinar la repercusión de la HTA en el riñón: NAG, LAP, LDH, Gamma-GT, etc. La beta-glucuronidasa urinaria ha sido estudiada por MARUHN<sup>76</sup> quien ha observado ligeros ascensos en las formas leves y moderadas, mientras que en las formas severas con esclerosis e insuficiencia renal paradójicamente, la actividad enzimática disminuía. En las hipertensiones secundarias sin deterioro de la función renal, la beta-glucuronidasa urinaria estaba muy aumentada (MARUHN)<sup>75</sup>. Para este autor los enzimas lisosomales son sensibles y precoces y su aumento en la orina es fiel expresión de lesión tubular. La normalización de la eliminación urinaria en los casos de insuficiencia renal probablemente es debido a fenómenos de inhibición enzimática, aunque otros han postulado que fuera secundario al agotamiento enzimático.

### C) Cirrosis hepática.

SOLIS HERRUZO y cols<sup>77</sup> han estudiado la eliminación urinaria de varios enzimas lisosomales en cirróticos con daño renal tubular frente a controles y a cirróticos con insuficiencia renal funcional. En la primera situación la eliminación urinaria de la beta-glucuronidasa (también otros enzimas tubulares) estaba aumentada, mientras que la actividad era normal similar a los controles en los casos con insuficiencia renal funcional. De ello deduce que el enzima puede ser utilizada en el diagnóstico diferencial de la insuficiencia renal del cirrótico.

## 2. ACTIVIDAD DE LA BETA-GLUCURONIDASA URINARIA EN LAS ENFERMEDADES RENALES.

### A) Infecciones.

Fueron KALLEP y LAPCO<sup>78</sup> quienes observaron modificaciones de la orina en sujetos con infección urinaria; en 11 casos de pielonefritis crónica la actividad enzimática estaba elevada, no encontraron ninguna correlación con la existencia de proteinuria ni tampoco con leucocituria. De ello deducen que la actividad urinaria deriva del enzima liberado a partir de células epiteliales descamadas, pues los hematíes apenas si tienen actividad beta-glucuronidasa. Por otro lado SCHAPIRO y GONICK<sup>79</sup> señalan que la elevación de la beta-glucuronidasa de la orina indica inflamación del parénquima renal de forma pura, pues los elementos del sedimento urinario (leucocitos, hematíes, bacterias, etc.) no modifican la actividad enzimática de la beta-glucuronidasa urinaria a diferencia de lo que ocurre con la LDH y FA; pero además ello tiene el refrendo experimental en situaciones relacionadas con cambios de pH, eliminación de inhibidores mediante la diálisis, conservación de la orina en refrigeración o congelación. Los elementos del sedimento no alteran la actividad de la beta-glucuronidasa de la orina. Sí, en cambio, detectaron cambios en relación con alteraciones del equilibrio ácido-base y grado de hidratación. GONICK y cols<sup>80</sup> han observado en 15 casos de pielonefritis activas actividad enzimática urinaria elevada, mientras que en trece casos de formas no activas el ascenso se observó sólo en once casos y de forma menos ostensible.

**B) Glomerulonefritis agudas/crónicas y síndrome nefrótico.**

GONICK y cols<sup>80</sup> han determinado el enzima en 38 casos de glomerulonefritis agudas observando ascensos en 31 pacientes, en cambio en los 8 casos con necrosis tubular el enzima siempre estuvo elevado. En 27 niños con síndrome nefrótico<sup>81</sup> la actividad beta glucuronidasa de la orina estaba significativamente aumentada en relación con los controles normales. Incluso el ascenso se observa en los niños, en remisión tras tratamiento corticoide.

En la nefropatía lúpica DELEKTORSKAYA<sup>82</sup> también ha determinado importantes ascensos, sobre todo en los pacientes que cursaban con proteinuria.

**C) Neoplasias renales y de vías excretoras.**

Al estudio de la beta-glucuronidasa urinaria se le ha dado gran importancia en el diagnóstico de los tumores malignos hasta tal punto que la mayoría de los trabajos de este enzima en la orina se refieren a la patología tumoral. Fueron BOYLAND y cols<sup>39</sup> los que pusieron de relieve la gran frecuencia de tumores malignos de vías excretoras urinarias en los trabajadores de la industria química (beta naftilamida, alfa-naftilamida, benzidina, etc.). Tales tumores se localizan en aquellas partes del tracto urinario donde la orina es retenida algún tiempo y permanece por tanto, más tiempo en contacto con el epitelio urinario (pelvis renal, parte final del uréter y, sobre todo, vejiga de la orina) y por tanto, la posible agresión por sustancias potencialmente cancerígenas es mantenida durante mucho tiempo. Estos mismos autores señalan que las orinas humanas contienen diversos metabolitos del triptófano ( 2-orto-aminofenoles, 3-hidroxi-quinurenina, ácido 3-hidroxi-antranílico, etc.) que habitualmente son eliminados conjugados con ésteres sulfúricos o glucurónicos, inactivos desde el punto de vista carcinogénico, pero los enzimas beta-glucuronidasa y sulfatasas, pueden liberar de estos aminofenoles conjugados otros aminofenoles cancerígenos, dependiendo del tiempo que la orina esté en la vejiga, pH de la orina, concentración de activadores e inhibidores etc.

Del aumento de la actividad de la beta-glucuronidasa urinaria en los tumores renales y de vías excretoras los mismos autores emiten la hipótesis de un doble mecanismo:

a) Que el aumento de la beta-glucuronidasa sea causa del tumor al liberar aminofenoles conjugados inactivos otros aminofenoles no conjugados activos desde el punto de vista cancerígeno.

b) Que el ascenso de la beta-glucuronidasa sea consecuencia del tumor, liberándose a partir de las células tumorales descamadas; ésta última posibilidad tiene mayores visos de certeza al haberse comprobado aumento de la beta-glucuronidasa en el tejido tumoral y en el suero de los pacientes con estas patologías. LEWIS Y PLAICE<sup>83</sup> han obtenido también aumento de la actividad de la beta-glucuronidasa urinaria en enfermos con carcinoma vesical, al mismo tiempo que han detectado en el 86% de los hombres y en el 52% de las mujeres la presencia de inhibidores. MATTEA y cols<sup>84,85</sup> en varios estudios al respecto han estudiado el enzima en orina de enfermos con cáncer de vejiga demostrando que la actividad estaba muy elevada, al mismo tiempo en los trabajadores de la industria de los colorantes (aminas aromáticas) también presentaban ascensos de la beta-glucuronidasa de la orina, aún antes de que se haya desarrollado el carcinoma de vejiga, dato que aboga por la acción cancerígena de estas aminas.

Por otra parte, el mismo autor y su grupo consiguen, al igual que los estudios de

BOYLAND<sup>39</sup>, disminuir la actividad de la beta-glucuronidasa de la orina mediante la administración de un inhibidor de la enzima: sácaro-1-4-lactona, sustancia que se puede utilizar en la profilaxis del carcinoma vesical de origen profesional.

KALLET Y LAPCO<sup>78</sup> en cuatro pacientes con carcinoma de vejiga demuestran que la actividad de la beta-glucuronidasa estaba elevada sólo en dos casos y SHAPIRO Y GONICK<sup>79</sup> en siete quistes renales una actividad normal del enzima en la orina, mientras que en 16 tumores renales malignos (hiper nefromas) la actividad estaba elevada. GONICK y cols<sup>80</sup> en cinco pacientes con quistes renales obtiene actividades enzimáticas normales, mientras que en 17 carcinomas renales la actividad enzimática estaba aumentada, aunque de forma moderada. En eschistosomiasis (enfermedad parasitaria que afecta a las vías excretoras y que con frecuencia suele degenerar en procesos malignos). FRIPP<sup>57</sup> ha demostrado aumento de la beta glucuronidasa de la orina, hecho que se interpreta como secundario al daño en la pared de la vejiga por el paso de huevos de bilharzias y por la reacción inflamatoria. Tras la curación mediante tratamiento médico se normalizan los parámetros enzimáticos, mientras que en los casos en los que ha implantado ya un carcinoma vesical las actividades enzimáticas permanecen elevadas. En otro estudio ABUL-FADL Y KHALAFALLAH<sup>86</sup>, teniendo en cuenta la elevada incidencia de cáncer de vejiga en íntima relación con la infestación por bilharzias, intentan explicarlo por la acción de mecanismos tóxico-lesivos de las aminas aromáticas (orto-aminofenoles) como ya había señalado BOYLAND<sup>39</sup>. Para ello estudian en la orina la beta-glucuronidasa y los metabolitos del triptófano en 50 sujetos normales, 55 con bilharziasis urinaria, 60 casos con bilharzias y hepato-esplenomegalia y 75 casos en los que además de la eschistosomiasis se había ya desarrollado un carcinoma vesical. Tanto los metabolitos del triptófano como la beta-glucuronidasa urinaria se encontraban por encima del doble de la normalidad y en los casos con carcinoma vesical hasta cuatro veces más de lo normal para la beta-glucuronidasa y hasta diez veces por encima de lo normal los derivados del triptófano. Para NORDEN y cols<sup>87</sup> la hidrólisis de los conjugados glucurónicos por la beta-glucuronidasa es uno de los principales factores de riesgo en el desarrollo del cáncer de vejiga. La importancia del estudio de la beta-glucuronidasa en la orina es para HO<sup>88</sup> muy grande, hasta tal punto que la propone como test screening y para el control evolutivo de las enfermedades malignas del tracto urinario. En los estudios previos de PAIGEN<sup>89,90</sup> se había demostrado que el ascenso de la enzima en la orina no es la causa de los tumores, sino la consecuencia y que aunque, como con otros enzimas lisosómicos, tiene un control genético, los ascensos se deben al propio tumor. El aumento de la beta-glucuronidasa también se ha observado en la pelagra y otras enfermedades carenciales (en las que se altera el metabolismo del triptófano) normalizándose tras tratamiento con ácido nicotínico; quizás en todo ello, intervenga el factor nutricional. BEGUN<sup>91</sup> también ha demostrado ascensos de la beta-glucuronidasa urinaria en la desnutrición prolongada, secundarias a la degeneración tubular y que se corrigen tras la administración de vitamina A.

#### D. Trasplante renal.

En pacientes con homoinjerto renal GONICK<sup>92</sup> en 39 pacientes ha observado que inmediatamente tras el trasplante, sin relación con el tipo de donante (riñón de vivo o de cadáver) se producían ascensos enzimáticos; en 26 casos en los que no hubo problemas de rechazo la actividad enzimática se normalizó a las tres semanas, en los

casos restantes con rechazo renal la actividad urinaria del enzima siempre estuvo elevada. SADMAN y cols<sup>93</sup> estudiando la actividad urinaria de varias glicosidasas (beta-galactosidasa, beta-glucuronidasa, N-acetil-beta-glucosaminidasa) en trasplantados renales detectan ascensos más acentuados en los casos con rechazo renal, por lo que abogan que la determinación de éstos enzimas es muy útil para vigilar la función del injerto y para detectar precozmente el rechazo. Al parecer el túbulo renal es el tramo de la nefrona que se afecta más precozmente con rechazo del alotrasplante (necrosis tubular) por ello las glicosidasas, enzimas tubulares por excelencia de localización lisosomal aumentan precozmente en la orina. Por otro lado la actividad de estas enzimas se puede utilizar en el control del tratamiento ya que en los casos de rechazo que responde bien a la inmunosupresión, la actividad enzimática vira hacia la normalidad. En el estudio de DYCK<sup>94</sup> donde también se analiza el comportamiento de varias glicosidasas urinarias en 21 sujetos con holotrasplante, observa en 13 de 16 casos ascensos de la actividad NAG, mientras que en las otras glicosidasas el aumento de actividad fue menor e inconstante. PANTSCHERA<sup>95</sup> ha llegado a similares conclusiones y en otro estudio recientemente. KOIVULA<sup>96</sup> demuestra que la actividad de la beta-glucuronidasa y NAG urinarias son de gran interés en el diagnóstico precoz y en el control evolutivo del rechazo.

### 3. AGENTES TOXICOS Y MEDICAMENTOSOS.

Cada día conforme avanza la terapéutica, se utilizan más y mejores sustancias en el tratamiento de la enfermedad, pero al mismo tiempo con mayor agresividad sobre las estructuras sanas. A éste respecto KOZMA<sup>97</sup> ha demostrado que la furosemida, diurético de asa, ampliamente usado en el tratamiento de los síndromes ascíticos y edematosos (insuficiencia cardíaca, nefrosis, cirrosis hepática, etc.) eleva la beta-glucuronidasa urinaria. Experimentalmente, en ratas con litiasis urinaria tratadas con pentosan polisulfato sódico también se eleva la actividad urinaria de varios enzimas (LDH, FA, gamma-GT, beta-glucuronidasa)<sup>98</sup>. La administración de gentamicina induce también daño tubular, lo cual se expresa por aumento de los enzimas urinarios (lisozima, glutamato deshidrogenasa, fosfatasa alcalina, beta-glucuronidasa)<sup>99</sup>, daño que puede ser evitado con la administración de selenio como ha demostrado experimentalmente NGAHA<sup>100</sup>.

La administración de antipirina y de rifampicina también determina aumento de varios enzimas urinarios (gamma-GT, beta-glucuronidasa), aunque estos aumentos más que por acción lesiva sobre el túbulo se han relacionado con fenómenos de inducción enzimática<sup>101</sup>. La medicación citostática tiene acción tóxica sobre el riñón y las vías excretoras, bien conocidas son las hematurias tras la administración de ciclofosfamida y en los últimos años también se han descrito con cis-platino<sup>102</sup>; el principal agente tóxico según han demostrado los estudios de DRELLER<sup>103</sup> analizando la actividad urinaria de la alanina aminopeptidasa y beta-glucuronidasa los de TAKAHASHI<sup>104</sup> estudiando la fosfatasa alcalina y beta-glucuronidasa y los de NEKULOWA<sup>105</sup> analizando la gamma-GT y beta-glucuronidasa, es el 5-fluorouracilo.

La toxicidad renal también la presentan algunos medios de contraste radiológicos tales como el diatrizoato sódico y el iopalmidol, los cuales determinan ascensos de la actividad urinaria de NAG, gamma-GT y beta glucuronidasa, tanto en sujetos con

función renal normal como cuando está deteriorada. El ácido maleico<sup>106</sup> determina también un aumento de la eliminación urinaria de enzimas lisosomales y también de la lisozima al parecer, por daño tubular. El cloruro de mercurio administrado a ratas aumenta la actividad urinaria de varias enzimas por daño tóxico tubular, aunque hay que eliminar las glándulas prepuciales muy ricas en beta-glucuronidasa que pueden artefactuar los resultados<sup>107</sup> al sumarse a la actividad de origen tubular; especialmente en relación con la beta-glucuronidasa. El aluminio en cambio disminuye la actividad urinaria de la beta-glucuronidasa al parecer, por inhibición enzimática.

#### 4. TRAUMATISMOS.

En un estudio ya clásico de LEWIS<sup>108</sup> se demostró que la beta-glucuronidasa urinaria aumenta tras intervenciones quirúrgicas mayores y traumatismos, ascenso que se explica por la intervención de la enzima en la hidrólisis del condroitin.

#### BIBLIOGRAFIA

1. **Dorhmann Re.** B-Glucuronidase. Springer-Verlag. Berlín 1969.
2. **Neuberg C. Neimann UC.** Syntese geparter Glucuronsauren. Z. Phys. Chem. 1905; 44: 114-120.3
3. **Hildebrandt H.** Zur frage der glykosidischen struktur gepaarter glucuronsauren. Hof Beit. Chem. Phys. 1905; 7: 438-441.
4. **Masamune H.** Biochemical studies on carbohydrates. On a enzyme which catalyses the hydrolysis of biosynthetic oxides of glucuronic acid. J. Biochem. 1934; 19:353-359.
5. **Oshima G.** Biochemical studies on carbohydrates. J. Biochem. 1963; 20: 361-368.
6. **Fishman WH.** Studies on  $\beta$ -glucuronidase II. A method of preparation and purification. J. Biol. Chem. 1939; 127: 367-373.
7. **Fishman WH.** Studies on  $\beta$ -glucuronidase II. Factor controlling the initial velocity of hydrolysis of some conjugated glucuronides. J. Biol. Chem. 1939; 131: 225-230.
8. **Fishman WH.** Studies on  $\beta$ -glucuronidase III. The increase in B-glucuronidase activity on mammalian tissues induced by feeding glucuronidogenic substances. J. Biol. Chem. 1940; 136: 229-237.
9. **Dutton CJ Storey EDE.** Uridine compounds in glucuronic acid metabolism. I. The formation of glucuronides in liver suspension. Biochem. J. 1954; 57: 275-281.
10. **Storey EDE, Dutton CJ.** Uridine compounds in glucuronic acid metabolism. II. The isolation and structure of uridine-diphosphate-glucuronid acid. J. Am. Chem. 1955; 59: 279-285.
11. **Strominger JL.** Enzymatic oxidation of uridine diphosphate glucose to uridin-diphosphate-glucuronid acid. J. Am. Chem. 1954; 76: 641-649.
12. **Florkin MR.** Sur le  $\beta$ -Glucuronides et la  $\beta$ -Glucuronidase. Enzymologie. 1942; 10: 220-228.
13. **Fishman WH, Green S.** Glucuronic acid synthesis by  $\beta$ -glucuronidase in a transfer reaction. J. Am. Chem. Soc. 1956; 78: 880-885.

14. **Fishman WH, Green S.** Enzymatic catalysis of glucuronyl transfer. *J. Biol. Chem.* 1957; 225: 435-441.
15. **Yoshida K, Kato K, Tsukamoto H.** Glucuronyl transfer reaction catalysed by B-glucuronidase by the use of ester glucuronides as substrates. *Chem. Pharm. Bull.* 1964; 12: 656-660.
16. **Dorhman RE.** Zur klinischen Bestimmung und kinetic der  $\beta$ -Glucuronidase, *Dtsch. Arch. Klin. Med.* 1960; 206: 322-326.
17. **Masume H.** Biochemical studies on carbohydrates. IV. On an enzyme which catalyses the hydrolysis of biosynthetic oxides of glucuronic acid. *J. Biochem (Tokyo).* 1934; 19: 353-359.
18. **Oshima G.** On  $\beta$ -glucuronidase. III. Report. *J. Biochem.* 1936; 23: 305-311.
19. **Mills GT.** The  $\beta$ -glucuronidase of ox-spleen and the assay of  $\beta$ -glucuronidase preparations. *Biochem. J.* 1948; 43: 125-130.
20. **Cohn EGT, McMeeken LJ, Oncley JM, Nevele M, Hghees J.** Preparation and properties of serum and plasma proteines. I. Size and charge of protein separating upon equilibration across membranes with ammonium sulfate solutions of controled pH, ionic strength and temperature. *J. Am. Chem. Soc.* 1940; 62: 140-151.
21. **Dorhman RE.** Untersuchungen uber das Fermenteiweiß B der  $\beta$ -Glucuronidase. *Z. Ges. Exp. Med.* 1963; 137: 379-385.
22. **FishmanWH.** Beta-glucuronidase. Its relation to the action of the estrogenic hormones. *J. Biol. Chem.* 1947; 169: 7-15.
23. **FishmanWH, Fishman LW.** The elevation of uterine Beta-glucuronidase activity by estrogenic hormones. *J. Biol. Chem.* 1944; 152: 487-490.
24. **Sengupta J, Talward D, Paria BC, Ghost D.** Endometrial phosphatase, B-glucuronidase and cathepsin D during menstrual cycle and pre-implantation stages of gestation in the rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *Acta. End.* 1988; 118:142-146.
25. **Baños ME, Rosales AM, Ballesteros LM, Hernández-Pérez O, Rosado A.** Changes in lysosomal enzyme activities in pre-ovulatory follicles and endometrium of PMSG superovulated rats. *Arch. Med. Res.* 1996; 27: 49-55.
26. **Kerr LMH, Campbell JC, Levy GA.** Beta-glucuronidase as an index of growth in the uterus and other organs. *Bioch. J.* 1949; 44: 487-492.
27. **Kerr LMH, Campbell JG, Levy GA.** Further observations on changes in Beta-glucuronidase activity in the mouse. *Biochem. J.* 1950; 46: 278-287.
28. **Fishman WH.** Beta-glucuronidase. *Endocrinology.* 1951; 48: 264-270.
29. **Odell LD, Fishman WH.** Studies on Beta-glucuronidase. I. Activities in human endometrium. *Am. J. Obst. Gyn.* 1950; 59: 200-208.
30. **Fishman WH.** Beta-glucuronidase and the action of steroids hormons. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1951; 54: 548-555.
31. **Pettengill OS, Fishman WH.** Influence of testosterone on glycine incorporation into mouse kidney Beta-glucuronidase. *Exp. Cell. Res.* 1968; 28: 248-255.
32. **Weissman G, Segal RL.** Serum beta-glucuronidase in thyroid disease. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1970; 134: 812-813.
33. **Nuñez Carril J, Mora Lara RJ.** El enzima beta-glucuronidasa en los estados de isfunción tiroidea. *Rev. Diag. Biol.* 1967; 2: 78-84.
34. **Jolin T, Nuñez J, Mora RJ.** Effect of thyroidectomy and of several boitrogens on beta-glucuronidase activity and insulin levels of rats. *Hormones.* 1972; 3: 228-234.

35. **Guillou H, Davis V, Lorey Y.** Serum lysosomal acid hydrolases activities in Graves's disease. *Clin. Chim. Acta.* 1982; 120: 219-224.
36. **Den Tandt WR.** On the stability of human lysosomal enzymes at room temperature in normal and acidified plasma and serum. *Clin. Chim. Acta.* 1996; 244:229-235.
37. **Becker B, Friedenwald JS.** Beta-glucuronidase activity. *Arch. Biochem.* 1949; 22: 101-110.
38. **Young JC, Kenyon EM, Calabrese EJ.** Inhibition of B-glucuronidase in human urine by ascorbic acid. *Hum. Exp. Toxicol.* 1990; 9: 165-170.
39. **Boyland E, Wallace DM, Williams DC.** Enzyme activity in relation to cancer. Inhibition of  $\beta$ -glucuronidase of patients with cancer of the bladder by oral administration of 1-4-sacharolactone and related compounds. *Br. J. Cancer.* 1957; 11: 578-589.
40. **Levy GA, Marsch CA.** The preparation and properties of beta-glucuronidase. V. specificity. *Biochem. J.* 1952; 52: 690-697.
41. **Bernfeld PVC, Bernfeld HC, Nisselanaum JS, Fishman WH.** Dissociation and activation of beta-glucuronidase. *J. Am. Chem. Soc.* 1954; 76: 4872-4880.
42. **Bernfeld PVC, Jacobsson S, Bernfeld HC.** Activator competitive enzyme inhibition. Interrelation of dissociation, activation, inhibition and surface inactivation of beta-glucuronidase. *Arch. Biochem.* 1957; 69:198-203.
43. **Mandell B, Sthal P.** Effects of Di-isopropyl Phosphoro fluoridate on rat liver microsomal and lysosomal B-glucuronidase. *Biochem. J.* 1977; 164: 549-556.
44. **Buehler HJ, Kazman PA, Doisy EA.** Beta-glucuronidase from *Escheria Coli*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1951; 76: 672-674.
45. **Marsh CA.** A glucuronide decomposing enzyme from rumen microorganisms. III. Mode of action specificity and inhibition by acid sugar derivatives. *Biochem. J.* 1955; 59: 375-380.
46. **Campbell JC, Levy GA.** The intracellular localization of beta-glucuronidase. *Nature.* 1950; 166: 738-739.
47. **Campbell JC, Levy GA.** Cytochemical localization of beta-glucuronidase. *Nature.* 1950; 166: 783-784.
48. **Walker PG, Levy GA.** The assay of beta-glucuronidase in rat liver. *Biochem. J.* 1952; 51: 20-22.
49. **Walker PG.** Preparation and properties of beta-glucuronidase. VI. Activity in rat liver preparation. *Biochem. J.* 1953; 54: 56-61.
50. **De Duve C, Pressman BC, Cianetto R, Wattiaux R, Appelmans F.** Tissue fractionation studies. VI. Intracellular distribution pattern of enzymes in rat-liver tissue. *Biochem. J.* 1955; 60: 604-608.
51. **De Duve C.** The lysosome. *Sci. Am.* 1963; 208: 64-74.
52. **Bartalos M, Gyorkey F.** Beta-glucuronidase. Their significance and relation to cancer. *J. Biochem.* 1963; 21: 21-27.
53. **Levy GA.** The inhibition of beta-glucuronidase by derivatives of saccharic acid. *Biochem. J.* 1952; 50: 15-21.
54. **Ishidata M.** Camphorol glucuronic acid and synthesis of hydroxycamphorglucoside. *J. Pharm. Soc. Japan.* 1929; 49: 336-341.
55. **Kuskinsky S, Chen VL.** Urinary inhibitors of beta-glucuronidase. *Enzymol. Biol. Clin.* 1967; 8:266-282.

56. Sakamoto W, Nishikaze D. Purification of beta-glucuronidase and its inhibitor from pregnancy urine. *Enzyme*. 1972; 13: 211-221.
57. Fripp J. The origin of urinary  $\beta$ -glucuronidase. *Br. J. Cancer*. 1968; 19: 230-234.
58. Maruhn D, Fuchs S, Muer G, Bock KD. Normal limits of urinary excretion of eleven enzymes. *Clin. Chem*. 1976; 22: 567-574.
59. Vanderjagt DJ, Brenda R, Glew SR. Comparison of urinary excretion of four lysosomal hydrolases in health elderly and young adults. *Clin. Chim. Acta*. 1992; 210: 47-54.
60. Vilchez Medina J, Rodríguez Cuartero A, Núñez Carril, J. Beta-glucuronidasa en normales. Evolución según edad y sexo. *Laboratorio*. 1985; 79: 47-58.
61. Roine R, Heinonen T, Salmela K, Heikonen E. Strenuous physical activity, aspirin and heat stress increase urinary dolichols evidence for lysosomal origin of urinary dolichols. *Clin. Chim. Acta*. 1991; 204: 13-21.
62. Isaksson A, Hultberg B, Bergenfeldt M. Lysosomal enzymes in pregnancy and steroid treated rats. *Horm. Metabol. Res*. 1988; 20: 274-277.
63. Lombardo A, Goi G, Pistolesi E, Rocca E, Agorti S, Fabi A, Giuliani A, Burlina AB, Tettamanti G. Behavior of several enzymes of lysosomal origin in human plasma during pregnancy. *Clin. Chim. Acta*. 1984; 143: 253-264.
64. Isaksson A, Gustavi B, Hultberg B, Masson P. Activity of lysosomal hydrolases in plasma at term and post partum. *Enzyme*. 1984; 31: 229-233.
65. Goldberg JA, Pineda EP, Banks EM, Rutenburg AM. A method for the colorimetric determination of  $\beta$ -glucuronidase in urine, serum and tissue; assay of enzymatic activity in health and disease. *Gastroenterology*. 1959; 36: 192-199.
66. Marre M. Microalbuminurie. Signification et interet. *Presse. Med*. 1993; 23: 1098-1103.
67. Pérez Blanco FJ, Sabatel Hernández G, Cántero J, Rodríguez Cuartero A. Urinary N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidasa excretion in non-insulin-dependent diabetes mellitus: relation with diabetic nephropathy. *Clin. Nephrol*. 1998; 49: 132-134.
68. Rao GM, Morghom LO, Abukhris AA. Serum beta-glucosidases in diabetes mellitus. *Clin. Physiol. Biochem*. 1988; 7: 161-164.
69. Rodríguez Cuartero A, Barcelona-Martín F. Urinary B-glucuronidasa excretion in insulin-dependent diabetes mellitus: relation with diabetes nephropathy. *Clin. Nephrol*. 1997; 48: 135-136.
70. Goi G, Burlina AB, Moreschi C, Motta G, et al. Enzymes of lisosomal origin in the serum of infants of diabetic mother behaviour in the first days after birth. *Acta. Diabetol. Lat*. 1988; 25: 351-360.
71. Burlina AB, Goi G, Fabi A, Lombardo A, et al. Behaviour of some lysosomal enzymes in the plasma of insulin dependent diabetic patients during artificial pancreas treatment. *Clin. Biochem*. 1987; 20: 423-427.
72. Goi G, Fabi A, Lorenzi R, Lombardo A, et al. Serum enzymes of lisosomal origin as indicators of the metabolic control in diabetes: comparison with glyated hemoglobin and albumin. *Acta. Diabetol. Lat*. 1986; 23: 117-125.
73. Berggard B, Exstrom B, Akerstrom BO. Alfa-1-microglobulin. *Scand. J. Clin. Lab. Invest*. 1980; 40 Suppl 154: 63-71.
74. Sitjar De Togores M, Muros M, León C, García Nieto VM. Estudio de la eliminación urinaria de N-acetil-  $\beta$ -D-glucosaminidasa y  $\beta_2$  microglobulina en la

- diabetes mellitus tipo I. *Ann. Esp. Pediatr.* 1991; 34: 225-229.
75. **Maruhn D, Gielow L, Bock KD.** Differences of urinary enzyme excretion in essential and renal hypertension. *Proc. 6<sup>th</sup>. Int. Symp. Clin. Enzymol.* 1974; 1: 505-515.
  76. **Maruhn D, Paar D, Bock KD.** Lysosomal and brush border membrane enzymes in urine of patients with renal artery stenosis and with essential hypertension. *Clin. Biochem.* 1979; 12: 228-230.
  77. **Solis Herruzo JA, García Cabezudo J, Díaz Rubio C, Gómez Segura A, Estenoz J, Castellano G, Muñoz Yague MT, Morillas JD, Schuller A.** Urinary excretion of enzymes in cirrhotics with renal failure. *J. Hepatol.* 1986; 3: 123-130.
  78. **Kallep HA, Lapcol L.** Urine beta-glucuronidase activity in urinary tract disease. *J. Urol.* 1967; 97: 352-356.
  79. **Schapiro A, Paul W, Gonick H.** Urinary beta-glucuronidase in urologic disease of the kidneys. *J. Urol.* 1968; 100: 146-157.
  80. **Gonick HC, Kramer HJ, Shapiro AC.** Urinary  $\beta$ -glucuronidase activity in renal disease. *Arch. Int. Med.* 1973; 132: 63-66.
  81. **Guszczynski T, Bednorz R, Morawska Z.** Activity of alanine aminopeptidase, beta-glucuronidase and N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase in urine of children with nephrotic syndrome. *Pol. Tyg. Lek.* 1991; 46: 753-754.
  82. **Delektorskaya L, Jannshkevich T, Okunev D.** The significance of the assays of urinary enzymes activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Z. Med. Lab. Diagn.* 1990; 31: 375-379.
  83. **Lewis FJW, Plaice CHJ.** Urinary  $\beta$ -glucuronidase activity in cancer of the bladder and other diseases. *Br. J. Cancer* 1960. 14: 106-111.
  84. **Mattea E, Petra E.** Determination of urinary  $\beta$ -glucuronidase. Its behavior in vesical malignant tumors. *Tumori.* 1959. 45: 86-90.
  85. **Mattea E, Petra E.** Increase of the  $\beta$ -glucuronidase activity of urine in benzidine workers. Correlation between enzymic activity and vesical cancerogenesis. *Tumori.* 1959; 45: 239-247.
  86. **Abul-Fadl MAM, Metwall OM.** Urinary and blood serum enzymes in bilharziosis and their possible relation to bladder cancer in Egypt. *Br. J. Cancer.* 1963; 17: 137-141.
  87. **Norden DA, Gelfand M.** Bilharzia and bladder cancer and investigation of urinary  $\beta$ -glucuronidase associated with *S Haematobium* infection. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1972; 66: 864-866.
  88. **Ho KJ.** Urinary  $\beta$ -glucuronidase in screening and followup of primary urinary tract malignancy. *J. Urol.* 1995; 154: 1335-1338.
  89. **Paigen K, Peterson J, Paigen B.** Role of urinary  $\beta$ -glucuronidase in human bladder cancer. *Cancer. Res.* 1984; 44: 3620-3624.
  90. **Paigen B, Yarfitz S, Tabron D.** Urinary glucuronidase and arylsulfatases in identical twins of bladder cancer patients. *Cancer. Res.* 1984; 44: 3624-3626.
  91. **Begun A.** Urinary excretion of  $\beta$ -glucuronidase in protein calorie malnutrition. *Clin. Chim. Acta.* 1973; 46: 229-234.
  92. **Gonick P.** Beta glucuronidase in renal transplant. *Clin. Res.* 1988, 22:300-303.
  93. **Sabdmán R, Margulis RM, Kountz SL.** Urinary lysosomal glycosidases after renal allotransplantation: correlation of enzyme excretion with allograft rejection and

# **HIPOTESIS Y OBJETIVOS**

La insuficiencia renal por nefropatía es la principal causa de muerte en los pacientes diabéticos<sup>1,2</sup>. Se estima que hasta el 50% de estos desarrollarán la enfermedad en el transcurso de 10 a 30 años<sup>3</sup>. Sobre todo en pacientes con diabetes mellitus tipo I, se ha establecido una estrecha relación entre el tiempo de duración de la enfermedad metabólica y las manifestaciones clínicas de la nefropatía diabética<sup>4</sup>.

Son múltiples los marcadores bioquímicos de la lesión renal que se utilizan para detectar lo más precozmente posible las alteraciones estructurales y funcionales renales, antes de que aparezcan los signos de nefropatía.

La presencia repetida de microalbuminuria es lo que se ha utilizado para etiquetar a los pacientes de nefropatía establecida y que corresponde al Estadio III de la clasificación de Mogensen<sup>5</sup>.

Cuando existe microalbuminuria es porque se ha alterado de forma permanente la membrana basal glomerular, aumentando el tamaño de sus poros. Para que este hecho se produzca han ocurrido anteriormente en el glomérulo una serie de cambios, primero funcionales, sobre todo el aumento de la presión capilar glomerular y posteriormente estructurales como la pérdida de la selectividad de carga a nivel de la membrana basal<sup>6</sup> que facilita que progrese la lesión glomerular.

Desde que acontecen las primeras alteraciones funcionales hasta que aparece microalbuminuria pueden transcurrir años. A este periodo se le denomina de nefropatía incipiente, no tiene repercusiones clínicas y equivale a los Estadios I y II de la referida clasificación de Mogensen.

Desde hace muchos años los investigadores tratan de encontrar algún hallazgo clínico o bioquímico que sirva para detectar lo más precozmente este periodo silente de la nefropatía diabética.

Conociendo los mecanismos fisiopatológicos que ocurren en el glomérulo en este periodo podemos estudiarlo con más profundidad. La pérdida de la selectividad de carga de la MBG se debe a que existe una disminución de los glucosaminoglicanos, unos de los componentes fundamentales de esta<sup>7</sup>. Como consecuencia los GAG eliminados por la orina están aumentados<sup>8</sup>.

Pero también conocemos que en la degradación de los GAG juegan un importante papel dos enzimas lisosómicas: N-acetil- $\beta$ -glucosaminidasa y  $\beta$ -glucuronidasa. En la diabetes mellitus tanto uno como otro también están alterados, aumentando su actividad urinaria.

Basados en estas hipótesis nos proponemos los siguientes objetivos:

- 1.- Estudiar la actividad urinaria de la  $\beta$ -glucuronidasa y la excreción por la orina de GAG en un grupo de sujetos sanos, tomados como control, que no tienen antecedentes de hipertensión arterial o de diabetes mellitus.
- 2.- Analizar el comportamiento de ambos marcadores de función renal en un amplio grupo de pacientes diabéticos agrupados según el estadio en que se encuentra la nefropatía, siguiendo la clasificación de Mogensen.
- 3.- Correlacionar ambos parámetros con otros marcadores de función renal, como son los niveles séricos de urea, ácido úrico y creatinina, además de la creatinina urinaria, aclaramiento de creatinina y albuminuria.

4.- Averiguar si existe relación entre el grado de control de la diabetes, mediante la determinación de hemoglobina glicosilada y la actividad urinaria de la  $\beta$ -glucuronidasa o la excreción de GAG por la orina.

5.- Correlacionar entre sí los resultados obtenidos de  $\beta$ -glucuronidasa y GAG en los diferentes grupos de pacientes diabéticos.

## BIBLIOGRAFÍA.

1. Knowles HC Jr. Magnitude of the renal failure problem in diabetic patients. *Kidney Int* 1974; 6: 2-7.
2. Paterson AD, Peacock I, Morgan AG et al. Causes of death in diabetic clinic population. *Lancet*. 1987; 1: 1313-1316.
3. Viberti GC, Yip-Messent J, Morocutti A. Diabetic nephropathy. Future avenue. *Diabetes Care*. 1992. 15:1216-25.
4. Borch-Johnsen K, Nissen H, Henriksen E et al. The natural history of insulin-dependent diabetes mellitus in Denmark. I. Long term survival with and without late diabetic complications. *Diabetic Med*. 1987; 4: 201-207.
5. Mogensen CE, Christensen CK, Vittinghus E, et al. The stages in diabetic renal disease. With emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy. *Diabetes*. 1983; 32 (suppl. 2): 64-78.
6. Myers BD, Winetx JA, Chui F et al. Mechanism of proteinuria in diabetic nephropathy: A study of glomerular barrier function. *Kidney Int*. 1982; 21: 633-639.
7. Baggio B, Briani G, Cicerello E, Gambaro G, Bruttomesso D, Tiengo A, Borsatti A, Crepaldi G. Urinary glycosaminoglycans, sialic acid and lysosomal enzymes increase in nonalbuminuric diabetic patients. *Nephron*. 1986; 43: 187-190.
8. Pérez-Blanco FJ, Moreno Terribas G, Cantero Hinojosa J, Rodríguez Cuartero A. Urinary excretion of glycosaminoglycans in patients with early diabetic nephropathy. *Nephron* 1996; 73: 344-345.
9. Waters PJ, Flynn MD, Corrall RJM, Pennock CA. Increases in plasma lysosomal enzymes in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus: relationship to diabetic complications and glycaemic control. *Diabetologia* 1992; 35: 991-995.
10. Gambaro C, Venturine AP, Noonan DM, et al. Treatment with a glycosaminoglycans formulation ameliorates experimental diabetic nephropathy. *Kidney Int*. 1994; 46: 797-806.

MATERIAL

**MATERIAL**

## **I) GRUPO DE ESTUDIO.**

Nuestro grupo comprende un total de 194 personas distribuidas de la siguiente forma:

### **A) GRUPO CONTROL.**

Constituido por 64 sujetos sanos, escogidos entre acompañantes de enfermos hospitalizados, estudiantes de la Facultad de Medicina, médicos del Hospital Universitario San Cecilio de Granada y algunos de sus familiares.

La edad osciló entre 31 y 85 años, 36 eran hombres y 28 mujeres.

En ninguno de ellos había antecedentes de diabetes mellitus y no estaban tomando ningún tipo de medicación o tomaban alguna dieta especial.

A todos ellos se les comunicó el estudio al que iban a ser sometidos, aceptándolo.

### **B) GRUPO DE DIABETES MELLITUS**

Formado por 130 pacientes diagnosticados de diabetes mellitus. Procedían de las consultas externas de Medicina Interna del Hospital Clínico San Cecilio de Granada y del Hospital de Motril.

Tras su inclusión en el estudio fueron distribuidos según el grado de nefropatía, atendiendo a los criterios de MOGENSEN<sup>1</sup>.

#### **a) Estadio I-II:**

Lo componían 55 pacientes, es decir el 42,3% de los enfermos diabéticos, cuyas edades oscilaron entre 12 y 84 años, de los cuales 27 eran hombres y 28 mujeres.

#### **b) Estadio III:**

Constituido por 43 pacientes, el 33,8% de los diabéticos, y sus edades estaban comprendidas entre 29 y 88 años, siendo 21 hombres y 22 mujeres.

#### **c) Estadio IV:**

Estaba formado por 32 enfermos, el 24,6% de los pacientes que eran diabéticos, con unas edades que oscilaron entre 42 y 80 años, de los que 17 eran hombres y 15 mujeres.

## TABLA V

### ESTADIOS DE LA NEFROPATIA DIABETICA (MOGENSEN)<sup>1</sup>

#### **ESTADIO I**

##### *HIPERFUNCION-HIPERTROFIA INICIAL.*

- Hipertrofia e hiperfiltración glomerular.
- Excreción normal de albúmina,

#### **ESTADIO II**

##### *LESIONES GLOMERULARES ASINTOMATICAS.*

- Engrosamiento de la membrana basal y engrosamiento del mesangio,
- Excreción normal del albúmina.

#### **ESTADIO III**

##### *NEFROPATIA INCIPIENTE.*

- Excreción aumentada de albúmina (microalbuminuria)
- Elevación de la presión arterial.

#### **ESTADIO IV**

##### *NEFROPATIA ESTABLECIDA.*

- Proteinuria > 0,5 gr/24 horas.
- Hipertensión arterial.
- Disminución de la filtración glomerular.

#### **ESTADIO V**

##### *INSUFICIENCIA RENAL TERMINAL*

- Estado urémico.
- Filtración glomerular inferior a 10 ml/min.

## **II) PROTOCOLO**

Tras el diagnóstico de diabetes mellitus, se rellenó un protocolo encaminado a determinar aspectos que podrían tener interés en la evaluación de los resultados. (ANEXO I).

### **A) TIPO DE DIABETES.**

En la anamnesis se reseñaba el tipo de diabetes que padecía el enfermo, el tiempo que llevaba, desde que fue diagnosticado y el tratamiento que seguía: insulina y tipo de insulina, antidiabéticos orales, dieta, etc.

### **B) TRATAMIENTO ANTIHIPERTENSIVO Y OTROS.**

Muchos pacientes diabéticos con nefropatía presentan hipertensión arterial, por lo que es importante indicar el fármaco antihipertensivo que estaba tomando y la dosis que seguía.

Se descartaron aquellos pacientes que seguían tratamiento con inhibidores del enzima convertidor de la angiotensina por el efecto que estos tienen sobre la excreción renal de albúmina y de enzimas.

Igualmente y por la repercusión que podrían tener sobre la excreción urinaria de GAG, se anotó, cualquier otro fármaco que tomaron en el momento del estudio, con especial atención a los aminoglucósidos, antiinflamatorios no esteroideos, ciclosporina o terapia hormonal sustitutiva. Descartamos a dichos pacientes del estudio.

### **C) ENFERMEDADES CONCOMITANTES.**

Se excluyeron todos los pacientes que tenían hipertensión arterial, que no fueran diabéticos. Así mismo se descartaron los que padecían nefropatías parenquimatosas, síndrome nefrótico o pielonefritis. También se rechazaron los que tenían infección urinaria.

### **D) CONTROL BIOQUIMICO BASICO.**

Encaminado fundamentalmente a evaluar la función renal. Se anotaron en el protocolo las siguientes determinaciones:

**Sangre:** glucosa, creatinina, urea, ácido úrico, hemoglobina glicosilada.

**Orina:** sedimento, microalbuminuria y creatinina.

### **E) DETERMINACIONES ESPECIALES.**

Se envió una muestra de orina de 24 horas al "Centro de Investigaciones Médicas Mora Lara" donde se determinó  $\beta$ -glucuronidasa y glucosaminoglicanos.

## **BIBLIOGRAFIA**

- 1- **Mogensen CE, Christensen CK, Vittinghus E, et al.** The stages in diabetic renal disease. With emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy. *Diabetes*. 1983; 32 (suppl. 2): 64-78.



# **METODO**

## 1. - DETERMINACIONES GENERALES DE LABORATORIO.

Una vez obtenido el consentimiento del paciente, se le indica la forma adecuada de recoger la orina de 24 h., rechazando la primera micción del día de inicio de la recogida y conservando en un frasco de 2 litros facilitado, todas las orinas realizadas hasta el día siguiente a la misma hora, incluyendo la primera micción matutina. La orina era conservada en frigorífico hasta su recogida en el hospital.

Durante ese día se le recomienda una actividad física normal y se abstuviesen de tomar algún fármaco no indicado para el control de su hipertensión o su diabetes.

En la mañana de terminar la recogida de orina, se realizaba la extracción de sangre para el control analítico indicado.

La muestra de sangre y una muestra de la orina de 24 h. eran enviadas para su análisis al laboratorio de nuestro hospital.

El aspecto clave para diagnosticar una nefropatía diabética es detectar el deterioro de la función renal. Existen diversas formas de evaluar la función renal, algunas sofisticadas como el aclaramiento de radionucleótidos, pero en la práctica clínica están universalizadas la creatinina sérica y aclaramiento de creatinina. Además se estudian la creatinina en orina, la urea y ácido úrico séricos.

### Creatinina sérica.

Es el marcador de función renal más extendido aunque la interpretación de este parámetro, a veces es complejo. La creatinina es un metabolito del catabolismo muscular y sus niveles plasmáticos, dependen de la masa muscular normal y en menor medida de la ingesta proteica (por este motivo puede variar levemente en relación al sexo, peso corporal y edad del sujeto).

### Aclaramiento de creatinina.

Ofrece una buena estimación de la función renal, aunque en realidad su rentabilidad se debe al hecho de que la creatinina que se excreta por el túbulo (cuando debería sólo filtrarse) se compensa por un exceso en la determinación de creatinina sérica.

La relación entre estos dos parámetros sigue una curva exponencial, esto quiere decir que a valores próximos al rango normal de creatinina, pequeñas variaciones del valor, suponen grandes variaciones en la tasa de filtrado glomerular. Mientras que con valores reducidos de la función renal, grandes cambios de creatinina implican pequeñas variaciones del filtrado glomerular.

Para complicar más la interpretación de la creatinina, el porcentaje de creatinina excretado por el túbulo aumenta cuando disminuye el flujo de filtrado glomerular.

En definitiva la creatinina sérica debe de interpretarse con cautela, y se recomienda la aplicación de fórmulas correctoras como la de Jelliffe<sup>1</sup> expresándose sus resultados en ml/min/ 1.73 m<sup>2</sup>.

$$\text{Aclaramiento de creatinina} = [ 92 - 16 (\text{edad} - 20) / 20 ] / \text{creatinina sérica.}$$

Posteriormente y para atenernos a las normas internacionales (unidades SI), hemos multiplicado el resultado por el factor de conversión 0'01667, para expresarlo en ml/seg.

Una muestra de orina fue remitida inmediatamente al Laboratorio de Investigaciones Médicas "Mora Lara" para la determinación de la microalbuminuria,  $\beta$ -glucuronidasa y GAG ( glucosaminoglicanos) donde se analizaron el día de la recepción.

## 2. - DETERMINACIONES ESPECIALES

### A) MICROALBUMINURIA

Se cuantificó la albuminuria en la muestra de orina de 24 h mediante INMUNONEFELOMETRÍA, método rápido que presenta una sensibilidad y reproductividad comparable al radioinmunoanálisis<sup>2</sup>.

Esta técnica se basa en la capacidad inmunorreactiva de la albúmina es decir, al acoplamiento de la molécula de albúmina a un anticuerpo específico, y cuantificación de los inmunocomplejos formados. No muestra interferencias con otros componentes habituales de la orina y permite la conservación a 4° C durante siete días o la congelación de la orina a -70°C. con resultados semejantes a los de la orina recién emitida.

Este método mide la luz dispersa producida durante la reacción entre el antígeno (albúmina contenida en la orina) y el anticuerpo (anti Lab, laboratorios Beckman). Fue cuantificada por un nefelómetro ICS auto-Beckman. Para ello se diluyó la orina a 1/36 expresando la albúminuria en mg/l. Posteriormente se convirtió a mg/g de creatinina<sup>3</sup>, considerando valores normales los menores de 30 mg/g de creatinina.

### B) BETAGLUCURONIDASA

#### 1. - *Fundamento.*

Hemos utilizado la técnica de GOLDBARG Y cols<sup>4</sup> basada en la hidrólisis enzimática de un sustrato, 6-bromo-2-naftol-beta-delta-glucopirunósido, que a determinado pH y temperatura, libera 6-bromo-2-naftol, éste reacciona con ortodiansidina tetrazotizada, produciéndose un derivado azotado coloreado, que se extrae con cloroformo y se compara con un patrón de 6-bromo-2-naftol; se obtienen así, microgramos de naftol liberados en el proceso enzimático y en las condiciones propias del método.

#### 2. - *Reactivos:*

A. Puffer acetato a pH 4,5.

Acido acético glacial: 2,4 cc.

Acetato sódico con 3 moléculas de H<sub>2</sub>O: 3,5384 g.

Agua destilada: hasta 100 cc.

B. Sustrato. 25 mg de 6-bromo-2-naftol-beta-delta glucopirunósido en 50 cc del puffer anterior. Su duración a temperatura ambiente oscila entre 2-3 meses.

C. Ortodiansidina tetrazotizada: se hace una dilución con agua destilada enfriada a 0-8 g C, en la proporción de 1 cc de agua por cada mg de ortodiansidina tetrazotizada. Esta

dilución debe prepararse diariamente.

D. Acido tricloro-acético al 80%.

E. Cloroformo.

F. Fosfato trisódico 0,3 molar: pesar: 11,4036 g (con 12 moléculas de agua) y llevar a 100 cc con agua destilada.

Solución patrón: solución de 100 µg/cc de 6-bromo-2-naftol.

### **METODICA DE RECOGIDA Y DE MANEJO DE LAS MUESTRAS DE ORINA.**

A todos los sujetos estudiados se les explicaba, personalmente, la metódica de recogida de la muestra de orina de la siguiente forma: a las ocho de la mañana del día indicado evacuar en el servicio la vejiga, a partir de entonces, comenzar la recogida de la muestra de 24 horas para lo cual le proporcionamos un recipiente de plástico (volumen de 2 litros) en donde durante dicho periodo de tiempo depositaran la orina hasta las 8 de la mañana del día siguiente, que orinaran por última vez.

La recogida de orina tiene indudablemente mayores dificultades, especialmente en sujetos controles o enfermos no ingresados ya que interfiere en las labores habituales (trabajo, estudio, etc), en éste último caso la recogida de orina se realiza aprovechando los fines de semana y festivos. La recogida de orina de 24 horas a pesar de los inconvenientes técnicos tiene indudables ventajas, tales como:

- Evalúa la actividad enzimática en un ciclo biológico de un día en el que intervienen factores derivados de la ingesta, cambios posturales, estrés, etc.
- Evita las posibles influencias que pueda ejercer el ritmo circadiano. En ninguna muestra de orina se utilizó ninguna sustancia estabilizante o conservante.

Una vez recogida la orina, es medida en una copa graduada, anotando en el protocolo la diuresis total y las características macroscópicas (coluria, hematuria, etc). De la diuresis total se toman tres muestras que se colocan en otras tantas bolsas de diálisis (bolsas de celofán), las cuales son sometidas a diálisis frente a agua corriente durante 24 horas, quedando ya la orina en condiciones de practicar la determinación enzimática. Tras la práctica de la diálisis se mide la cantidad de orina (suele ser superior a la que colocamos previamente a la diálisis) y tomamos 1 ml con el que haremos la determinación enzimática. Para expresar la actividad enzimática habrá que multiplicar por el factor de dilución de orina (fácil de calcular según una regla de tres: por ej: si pusimos 10 ml de orina y tras la diálisis hay dos el factor será 1,2).

### **C) GLUCOSAMINOGLICANOS.**

La determinación cuantitativa de GAG en orina se basa en la medición de los restos de ácido hexourónico, el cual se encuentra presente de una u otra manera en todos los GAG. El ácido hexourónico se puede determinar directamente por simple dialización<sup>5</sup> o tras su purificación después de múltiples pasos como su fraccionamiento en columna de celulosa o acetato de bario<sup>6</sup>, precipitación con CPC<sup>7</sup> o aminoacridina<sup>8</sup>.

Nosotros hemos utilizado el método colorimétrico con CPC descrito por PENNOCK<sup>9,10</sup>.

**1. - Colección y preparación de la muestra.**

Es aconsejable desechar la orina de la primera hora de la mañana y aquella procedente de pacientes que presenten infección urinaria. Se recomienda recoger una muestra de orina entre las 9:00 h y las 18:00 h del día, o bien orina de 24 h. No usamos ningún conservante para la orina y si la determinación no se va a realizar de inmediato se puede congelar la muestra.

Cuando la densidad de la orina es superior a 1020, hay que diluirla con agua destilada, midiendo la cantidad añadida para la posterior corrección de la dilución.

**2. - Principio.**

A un pH concreto y a una concentración de CPC determinada, los GAG se transforman en un precipitado insoluble. En presencia de buffer citrato a pH de 4'8 este precipitado se estabiliza y se dispersa lo suficiente para poder medir su absorbancia a 546 nm en un espectrofotómetro.

**3. - Reactivos.**

**A.- Buffer de citrato a pH 4'8 (0'1 M).**

Disolver 1'936 gramos de ácido cítrico y 3'176 gramos de citrato trisódico en 200 ml de agua destilada. Ajustar el pH a 4'8 utilizando un Phmetro. Si la solución tiene un pH mayor de 4'8 se añade ácido cítrico y si el pH es menor se añade citrato.

**B.- Reactivo CPC.**

Disolver 100 mg de Cetil-Piridinilo-Cloruro (CPC) en 100 ml de buffer de citrato (reactivo anterior). Almacenado a temperatura estable permanece activo durante un año.

**C.- Metódica.**

Se centrifuga la muestra y utilizamos para el test el sobrenadante. Tanto la muestra de orina como los reactivos deben de estar a temperatura entre los 20°C y los 25°C. Es muy importante que la solución de CPC se encuentre a esta temperatura, ya que a temperatura más baja falsea de forma importante los resultados. A continuación se realizan los siguientes pasos:

- 1.- Mezclar 1 ml de la muestra de orina con 1 ml del buffer de citrato (BM).
- 2.- Mezclar 1 ml de muestra de orina con 1 ml de reactivo CPC (M).
- 3.- Mezclar 1 ml de solución patrón con 1 ml de reactivo CPC (P).

	BM	M	P
Muestra de orina	1 ml	1 ml	--
Buffer de Citrato	1 ml	--	--
Reactivo CPC	--	1 ml	1 ml
Solución patrón	--	--	1 ml

Se mantienen estas soluciones durante 30 minutos a temperatura constante y a continuación se colorimetran a onda de 546 nm

**D.- Cálculos.**

La cuantificación de la concentración de GAG se obtiene mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración de GAG en unidades CPL/l} = \frac{\text{D.O. de - D.O. de BM}}{\text{D.O. de P}} \times \frac{\text{Concentración Sol. Patrón}}{10}$$

Normalmente la concentración de la solución patrón es de 50 mg/l. de Condroitín sulfato. Una unidad de CPC equivale a la absorbencia de una solución que contiene 10 mg de Condroitín sulfato por litro.

El resultado se expresa en unidades por gramo de creatinina, por lo que el cociente obtenido de la fórmula anterior se divide por la concentración de creatinina urinaria expresada en micromoles / dl.

**3. - ANALISIS ESTADISTICO**

El método estadístico puede dividirse en tres apartados:

**1. - Análisis de las diferencias entre grupos variable a variable****\* Variables cuantitativas:**

Para ello, comprobamos la normalidad de las variables cuantitativas con el test de KOLGOMOROV-SMIRNOFF.

1. - Cuando se ajustaban a la "normalidad", se realizó el test de comparación de medias (t de STUDENT o de WELCH) o análisis de la varianza para una vía (ANOVA 1) según el número de grupos considerados.

En el caso de que ANOVA 1 fuera significativa se efectuarán comparaciones por parejas, mediante el procedimiento de NEWMAN-KEULS con penalización de BONFERRONI.

2. - Cuando las variables no se ajustaban a la normalidad, se emplearon los test no paramétricos (MANN-WHITNEY o KRUSKALL-WALLIS).

**\* Variables cualitativas:**

En el caso de las variables cualitativas se utilizó el estadístico  $\text{CHI}^2$  cuando se cumplían las condiciones de validez del mismo.

En tablas 2x2, se utilizó el test exacto de FISHER.

Durante todo el estudio, se aceptó que había significación estadística cuando p era menor de 0,05.

## **2. - Influencia de varios factores en las diferentes variables cualitativas**

Para estudiar como influían las diferentes variables cualitativas en los índices numéricos de la creatinina urinaria y sérica, ácido úrico y urea sérica, microalbuminuria y hemoglobina glicosilada, betaglucuronidasa urinaria y GAG urinarios, se realizó un análisis de la varianza para una vía para comparar las medias de dichas variables en las diferentes categorías que tomaba cada factor. Como antes se comentó, cuando ANOVA dio significativo, se efectuaron comparaciones por grupos mediante test de NEWMAN-KEULS con penalización de BONFERRONI. Cuando las variables no se ajustaban a la normalidad el estudio comparativo se realizó con test no paramétricos (KRUSKAL-WALLIS).

## **3. - Análisis de correlación entre variables**

Se hizo un estudio de correlación entre las diferentes variables cuantitativas a partir de los coeficientes de PEARSON (o SPEARMAN) declarándolos significativos para un valor absoluto de 0,35.

## **4. - METODO BIBLIOGRAFICO**

El método utilizado para la obtención del material bibliográfico se ha apoyado en los siguientes sistemas de búsqueda:

### **1. - Búsqueda directa en repertorio**

#### **a) Internacionales:**

- Index Medicus
- Excerpta Médica
- Bulletin Signaleptique

#### **b) Nacionales:**

- Indice Médico Español

### **2. -Bases de datos**

#### **\* Internacional.**

A partir del año 1984, realizamos una búsqueda informática a través del Servicio Medline en CD-Rom utilizando las palabras claves: "Microalbuminuria", "Glucuronidase" y "Glycosaminoglycan" cruzadas con "Hypertension" y "Diabetes".

#### **\* Indice Médico Español (CSIF)**

Recoge toda la bibliografía publicada en Español desde el año 1975.

Usamos las palabras claves: "Microalbuminuria", "Betaglucuronidasa" y "glucosaminoglicanos" cruzadas con "Hipertensión" y "diabetes".

Una vez conseguidos los abstracts, procuramos acceder a las publicaciones más interesantes en la Hemeroteca de la Facultad de Medicina de Granada, Hemeroteca de la Ciudad Sanitaria Virgen de las Nieves de Granada, así como de otros centros concertados con la Hemeroteca de la Facultad de Medicina de Granada.

Las citas bibliográficas se exponen por orden de aparición en el texto y de acuerdo con las normativas establecidas por el Comité Internacional de Revistas Médicas<sup>11</sup>.

## **5. - METODO DE REDACCION Y ESTILO.**

Para la terminología habitual se han seguido las normas de los Diccionarios de la Real Academia de la Lengua<sup>12</sup>, el de María Moliner<sup>13</sup> y el de Doyma Masson<sup>14</sup>, para el uso adecuado del español.

Para la terminología médica utilizamos el Diccionario Mosby de la Salud<sup>15</sup>, el Diccionario Terminológico Roche<sup>16</sup> y el Diccionario de la Editorial Masson<sup>17</sup>.

En la estructuración del Trabajo de Investigación y Tesis Doctoral seguimos las normativas recomendadas por SIERRA<sup>18</sup>, SERNA<sup>19</sup>, HERNANDEZ VAQUERO<sup>20</sup> y GARCIA ROMAN<sup>21</sup> para lo que seguimos normas uniformes adoptadas por las Revistas Médicas<sup>22</sup> y las actuales del Sistema SI<sup>23</sup>.

## **6- SISTEMA DE UNIDADES DE MEDIDA.**

Los avances en la biología electromecánica han determinado la introducción de nuevas unidades de medida.

En 1971 se crea el sistema internacional de medidas "SI" cuyas unidades básicas son siete: metro, kilogramo, segundo, ampére, kelvin, candela y mol.

Este sistema es muy flexible al emplear prefijos para formar múltiplos o divisores de sus unidades.

Se estableció en las revistas internacionales de renombre a partir de 1980<sup>24</sup> y se recomendó a partir de entonces por el Comité Internacional de Editores de Revistas Biomédicas<sup>25</sup>.

Si tenemos en cuenta que nuestros aparatos de medida y los métodos habituales de laboratorio siguen dándonos los resultados en las antiguas unidades, aplicamos un factor de corrección, en cada unidad, ya previamente establecido<sup>26</sup>.

A continuación y en la Tabla VI exponemos los factores de conversión en unidades SI de los parámetros que hemos utilizado:

## TABLA VI

## LÍMITES DE REFERENCIA Y CONVERSION EN UNIDADES "SI".

Constituyente	Espécimen	Límites de referencia	Factor conversión	Unidades SI
Creatinina	Orina	1,0 - 1,9 g / 24 h	8,8	nmol/dl
Creatinina	Suero	0,6 - 1,2 mg / dl	88,4	μmol / l
Aclaramiento de creatinina	Suero / Orina	75-125 ml / min	0,01667	ml / seg
Urea	Suero	8 - 18 mg / dl	0,357	mmol / l
Acido úrico	Suero	2,0 - 7,0 mg / dl	59,48	μmol / l

## BIBLIOGRAFÍA:

1. Jelliffe RW. Creatinine clearance bedside estimate. *Ann. Intern. Med.* 1973; 79: 604-605.
2. Dezier JF, Jouanolle AM, Le Reun M, Poirier JY. Comparaison de deux méthodes de dosage de la microalbuminurie: L'immunonéphelometrie et la radioimmunologie. *Ann. Biol Clin* 1987; 45: 78-84.
3. Winocour PA. Microalbuminuria. Worth screening for in early morning urine samples in diabetic, hypertensive and elderly patients. *Br Med.J.* 1992; 304: 1196-1197.
4. Goldbarg JA, Pineda EP, Banks BM, Rutenburg AM. A method for the colorimetric determination of β-glucuronidase in urine serum and tissue, assay of enzymatic activity in health and disease. *Gastroenterology* 1959; 36: 192-199.
5. Segni G, Romano C, Tortorolo G. Diagnostic test for gargolism *Lancet.* 1964; 2: 240.
6. Wessler E. Analytical and preparative separation glycosaminoglycans by electrophoresis in barium acetate. *Analytic Biochem.* 1968; 26: 439-444.
7. Thompson GR, Castor CW. The excretion of nondialyzable urinary mucopolysaccharide in rheumatic and other systemic disease states *J Lab. Clin. Med* 1966; 68: 617-627.
8. Bitter RT, Siegenthaler P, Depreux T, et al. Excretion in the urine of aminoacidine precipitable polyuronids (acid mucopolysaccharides) in patients with rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum* 1970; 29: 427-433.
9. Pennock CA. A modified screening test for glycosaminoglycan excretion. *J Clin Path.*

- 1969; 22: 379.
10. **Pennock CA.** A review and selection of simple laboratory methods used for the study of glycosaminoglycan excretion and the diagnosis of the mucopolisaccharidoses *J. Clin. Path* 1976; 29: 111-123.
  11. **Comité Internacional de Editores de Revistas Medicas.** Requisitos de uniformidad para manuscritos presentados para publicación en revistas biomédicas. *Med Clin* 1997; 109: 756-763.
  12. **Diccionario de la Real Academia de la Lengua.** Ed Espasa Calpe S A. Madrid 1990.
  13. **Moliner M.** Diccionario del uso del Español. Ed. Gredos. Madrid 1991.
  14. **Medicina Clínica.** Manual de estilo. Ed. Doyma, Barcelona 1993.
  15. **Diccionario Mosby de la Salud.** Ed. Mosby / Doyma. Madrid. 1996.
  16. **Diccionario Roche.** Ed. Doyma, Barcelona 1994.
  17. **Diccionario Terminológico de Ciencias Médicas.** Ed. Masson. Barcelona 1992.
  18. **Sierra Bravo R.** Tesis doctorales y trabajos de investigación científica. Ed. Paraninfo, Madrid 1986.
  19. **Serna A, Serna MP.** La tesis doctoral de medicina. Ed. Diaz Santos S.A. Madrid 1995.
  20. **Hernández Vaquero D.** El artículo científico en biomedicina. Normas para la publicación de trabajos. Ed. Ciba-Geigy Barcelona 1997.
  21. **García Román JL.** Como elaborar un proyecto de investigación. Ed. Universidad de Alicante. Murcia 1995.
  22. **International Steering Committee of Medical Editors.** Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. *Br Med J.* 1977; 1: 532-535.
  23. **Miralles EM, Bergón E, Pascual T.** Tablas con límites de referencia en unidades tradicionales y del sistema internacional *Rev. Clin. Esp.* 1995; 196: 96-103.
  24. **Scully RE, Mcneely BH, Galdabini J.J., Weekly.** Clinicopathological exercises. *N Engl J. Med.* 1980; 302: 37-48.
  25. **International Committee of Medical Journal Editors.** Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journal. *Ann. Intern. Med.* 1982; 96: 766-771.
  26. **Laposata M.** SI unit conversion guide. NEJM Books. Boston 1997.

# RESULTADOS

## **D) CASUISTICA**

Los grupos de estudio se han distribuido en controles sanos y pacientes diabéticos, divididos según el Estadio en el que se encontraba la nefropatía.

En las tablas VII a IX se muestran todos los datos recogidos en los sujetos sanos tomados como controles normales.

En las tablas X a XII se recogen los datos obtenidos en los pacientes con nefropatía diabética en Estadios I y II, de la clasificación de Mogensen.

Asi mismo en las tablas XIII y XIV se presentan los resultados de los enfermos con nefropatía en Estadio III.

Por último en las tablas XV y XVI recogemos los datos del estudio de los pacientes diabéticos en Estadio IV.

**TABLA VII**  
**SUJETOS CONTROLES SANOS**

Nº	EDAD (años)	SEXO	UREA SERICA (mmol / l)	CREATININA SERICA (µmol / l)	ACIDO URICO SERICO (µmol / l)	Hb1c (%)
1	81	H	2,28	91,05	225,42	5,2
2	37	M	3,35	78,67	202,20	4,5
3	69	M	4,21	102,54	373,53	5,4
4	37	M	2,2	96,35	223,05	4,3
5	68	H	2,37	106,08	311,67	4,9
6	61	H	3,91	91,93	293,23	4,8
7	57	M	5,82	91,93	257,54	4,1
8	69	H	7,25	113,15	331,80	5,0
9	65	M	4,2	68,95	186,76	4,8
10	55	M	3,52	76,02	287,28	5,0
11	46	H	6,41	102,54	406,24	4,0
12	67	M	5,32	98,20	314,05	4,1
13	78	M	4,28	74,25	243,27	3,8
14	56	H	6,31	112,26	299,00	3,9
15	72	H	5,21	117,57	244,15	4,5
16	51	H	3,28	101,66	238,64	4,0
17	85	M	2,62	124,64	208,55	4,7
18	76	H	3,29	114,03	277,17	5,2
19	84	M	1,84	80,44	307,50	4,4
20	59	H	2,63	92,82	281,53	4,5
21	64	M	3,95	102,54	386,62	5,4

**TABLA VII (CONTINUACION)**  
**SUJETOS CONTROLES SANOS**

Nº	CREATININA URINARIA (mmol / dl)	ACLARAMIENTO CREATININA (ml / seg).	MICRO ALBUMINURIA (mg / g creatinina)	GAG (U/g creatinina)	β-GLUCURO NIDASA. (U/mg creatinina)
1	8,27	2,85	1,94	15,9	6,39
2	5,45	2,98	11,59	12,7	8,96
3	1,76	2,66	6,03	7,0	7,95
4	10,03	3,34	3,04	17,3	15,42
5	8,62	1,77	8,04	5,6	28,39
6	8,36	0,41	1,43	8,7	7,75
7	5,01	2,53	5,56	4,2	39,42
8	11,61	3,48	5,29	12,5	28,65
9	3,96	3,57	3,14	4,2	39,65
10	2,90	2,80	5,82	9,0	17,42
11	8,53	1,96	6,90	6,5	14,28
12	3,08	1,69	2,21	17,1	25,30
13	13,81	4,05	24,18	13,5	14,70
14	15,04	3,58	2,74	5,8	30,90
15	8,80	4,43	14,54	9,7	42,65
16	5,28	0,83	22,24	5,5	9,74
17	4,31	3,04	10,25	11,0	41,70
18	5,80	0,25	1,60	9,4	28,64
19	4,22	1,69	4,08	11,2	29,82
20	5,28	0,10	6,29	7,8	14,16
21	6,33	2,90	47,70	12,3	20,15

**TABLA VIII**  
**SUJETOS CONTROLES SANOS**

Nº	EDAD (años)	SEXO	UREA SERICA (mmol / l)	CREATININA SERICA (µmol / l)	ACIDO URICO SERICO (µmol / l)	Hb1c (%)
22	62	M	8,35	84,86	227,21	4,3
23	72	H	4,39	125,52	346,76	4,8
24	51	H	4,80	83,09	264,01	4,7
25	80	M	5,20	105,19	357,47	5,1
26	72	H	4,26	97,24	176,06	5,2
27	70	H	3,28	132,60	360,44	4,4
28	55	M	5,25	69,83	162,97	4,2
29	80	H	6,32	110,50	341,41	3,9
30	72	H	4,28	129,06	160,30	4,2
31	71	H	3,96	93,70	393,75	5,0
32	79	M	5,28	91,05	204,46	5,7
33	60	M	3,84	83,09	246,84	4,9
34	67	H	4,62	129,94	211,00	4,5
35	70	M	5,25	79,56	277,77	4,9
36	64	H	4,30	106,90	337,25	4,4
37	71	M	6,31	91,93	215,91	5,1
38	59	H	5,42	76,02	322,38	5,0
39	79	H	6,20	83,98	177,62	3,9
40	77	M	4,80	88,40	259,95	4,9
41	75	H	7,25	99,00	225,28	5,4
42	60	M	3,39	77,79	263,94	4,6

**TABLA VIII (CONTINUACION)**  
**SUJETOS CONTROLES SANOS**

Nº	CREATININA URINARIA (mmol / dl)	ACLARAMIENTO CREATININA (ml / seg).	MICRO ALBUMINURIA (mg /g creatinina)	GAG (U/g creatinina)	β-GLUCURO NIDASA. (U/mg creatinina)
22	4,57	0,90	11,32	7,80	39,65
23	9,85	3,09	3,35	8,50	12,62
24	8,18	2,61	3,69	27,80	8,96
25	6,86	6,90	11,39	9,70	18,39
26	7,04	3,22	2,83	5,50	39,16
27	3,25	0,13	1,07	4,00	26,14
28	6,16	2,43	2,81	14,50	34,12
29	3,78	0,15	4,62	25,60	29,16
30	7,04	0,13	4,48	8,20	32,45
31	5,10	3,78	1,40	12,50	30,40
32	5,28	3,48	2,47	14,10	28,64
33	4,57	2,59	3,08	10,20	39,30
34	5,19	1,94	9,38	26,10	42,65
35	7,04	3,38	2,01	9,70	36,28
36	8,71	2,21	2,41	12,10	30,25
37	2,28	2,98	1,80	4,20	20,16
38	4,04	2,76	1,47	28,40	19,30
39	5,54	3,78	1,60	12,00	28,16
40	3,96	3,46	40,33	2,80	20,15
41	3,16	2,98	11,18	18,60	39,74
42	10,20	2,76	3,28	7,00	24,68

**TABLA IX**  
**SUJETOS CONTROLES SANOS**

Nº	EDAD (años)	SEXO	UREA SERICA (mmol / l)	CREATININA SERICA ( $\mu$ mol / l)	ACIDO URICO SERICO ( $\mu$ mol / l)	Hb1c (%)
43	70	H	4,68	89,28	262,30	4,5
44	63	H	2,20	96,35	274,20	4,7
45	81	H	6,90	129,90	112,12	5,2
46	75	H	4,57	61,88	350,90	4,5
47	53	M	5,92	62,76	207,58	6,4
48	54	H	6,25	104,31	312,86	6,2
49	65	H	3,20	84,86	333,68	4,8
50	74	H	3,49	97,24	315,83	5,1
51	65	H	6,23	91,05	308,10	4,3
52	75	M	3,91	88,40	234,94	4,6
53	55	H	4,72	106,08	297,99	9,0
54	76	M	4,29	73,37	242,08	5,0
55	73	H	6,61	112,26	299,77	4,5
56	63	H	6,90	67,18	277,17	4,0
57	80	H	4,29	90,16	401,50	4,9
58	73	M	5,34	101,66	396,73	4,5
59	48	H	4,67	76,90	346,17	4,8
60	45	H	3,24	79,56	242,53	4,6
61	72	M	4,38	68,95	286,25	5,4
62	66	M	4,90	68,95	214,12	4,4
63	71	M	5,36	61,88	190,33	5,1
64	31	M	6,38	70,72	249,81	3,2

**TABLA IX (CONTINUACION)**  
**SUJETOS CONTROLES SANOS**

Nº	CREATININA URINARIA (mmol / dl)	ACLARAMIENTO CREATININA (ml / seg).	MICRO ALBUMINURIA (mg / g creatinina)	GAG (U/g creatinina)	β-GLUCURO NIDASA. (U/mg creatinina)
43	12,49	3,01	2,88	13,60	30,16
44	8,62	2,40	1,13	13,00	24,19
45	5,10	2,52	55,67	15,80	20,80
46	5,80	4,78	5,22	5,70	21,82
47	5,89	2,82	4,75	18,30	32,76
48	10,03	1,75	4,69	16,90	30,40
49	3,52	2,85	5,09	22,20	28,17
50	13,37	2,98	5,96	26,40	7,96
51	5,36	2,66	5,82	34,70	26,18
52	6,33	3,34	6,03	12,70	54,39
53	5,19	1,77	0,67	15,00	6,38
54	2,55	0,41	5,56	28,20	39,54
55	10,52	2,53	1,47	14,60	18,16
56	10,03	3,48	18,02	15,20	24,19
57	4,66	3,57	1,80	8,80	32,65
58	9,68	2,80	1,54	8,50	29,37
59	7,21	1,96	11,65	12,50	20,70
60	16,72	1,60	7,83	5,10	28,72
61	1,67	4,05	1,13	14,20	41,38
62	3,69	3,58	2,34	9,00	12,17
63	13,20	4,43	4,62	15,00	10,90
64	9,68	0,83	14,47	21,28	16,42

**TABLA X**  
**NEFROPATIA ESTADIO I-II**

Nº	EDAD (años)	SEXO	UREA SERICA (mmol / l)	CREATININA SERICA ( $\mu$ mol / l)	ACIDO URICO SERICO ( $\mu$ mol / l)	Hb1c (%)
1	46	H	2,81	108,73	226,35	7,0
2	28	M	3,25	97,24	286,38	8,2
3	39	M	2,67	65,84	239,54	9,0
4	48	M	2,90	93,16	382,54	9,2
5	51	H	3,45	59,84	301,42	6,0
6	68	H	3,82	120,42	128,39	7,6
7	58	M	6,95	86,60	149,72	8,7
8	84	M	4,72	79,85	281,70	9,7
9	75	H	4,85	139,42	290,75	5,1
10	63	M	7,94	128,64	174,65	8,4
11	52	H	6,39	99,34	129,39	3,9
12	67	M	7,21	100,30	398,40	5,8
13	68	H	8,34	96,81	435,65	5,0
14	53	H	6,12	129,14	192,70	7,9
15	70	H	2,15	130,25	275,20	6,6
16	52	M	4,25	90,62	286,75	7,5
17	41	H	3,18	87,85	240,64	5,2
18	63	M	4,17	79,40	308,41	9,1
19	50	M	5,42	139,82	239,52	7,5

**TABLA X (CONTINUACION)**  
**NEFROPATIA ESTADIO I-II**

Nº	CREATININA URINARIA (mmol / dl)	ACLARAMIENTO CREATININA (ml / seg).	MICRO ALBUMINURIA (mg /g creatinina)	GAG (U/g creatinina)	β-GLUCURO NIDASA. (U/mg creatinina)
1	8,62	2,18	42,25	17,90	28,17
2	4,95	2,92	39,68	21,71	29,72
3	15,72	3,17	71,42	24,74	20,40
4	12,74	1,14	20,30	20,18	39,67
5	14,19	1,92	11,14	21,10	14,16
6	9,75	1,39	30,28	28,74	7,28
7	8,67	2,29	18,15	39,56	59,78
8	9,39	2,17	14,30	7,61	6,25
9	6,40	0,39	18,26	4,90	19,30
10	14,10	0,96	31,42	52,15	42,71
11	19,75	1,32	6,28	12,15	18,17
12	16,14	1,20	17,71	18,24	26,30
13	14,10	2,17	12,30	11,12	14,15
14	11,17	2,60	19,68	39,18	31,62
15	8,71	0,96	9,74	16,32	9,87
16	9,70	1,39	8,15	34,00	16,20
17	9,90	2,18	10,39	47,21	15,42
18	8,16	2,00	4,70	4,82	8,16
19	6,39	1,17	9,82	7,90	26,26

**TABLA XI**  
**NEFROPATIA ESTADIO I-II**

Nº	EDAD (años)	SEXO	UREA SERICA (mmol / l)	CREATININA SERICA ( $\mu$ mol / l)	ACIDO URICO SERICO ( $\mu$ mol / l)	Hb1c (%)
20	29	H	2,38	120,20	320,40	8,7
21	38	M	3,96	114,17	265,28	8,6
22	72	H	4,18	181,42	242,30	7,6
23	65	M	5,18	128,17	290,62	6,0
24	15	M	3,10	67,91	309,71	7,9
25	58	H	4,16	88,42	108,65	6,2
26	62	H	3,91	70,90	198,42	7,7
27	64	H	4,82	134,21	208,82	6,2
28	81	H	3,68	67,20	296,75	6,9
29	67	M	4,29	59,48	307,17	7,7
30	24	H	5,62	70,26	418,15	6,8
31	75	M	4,18	68,60	165,82	8,2
32	67	M	3,39	139,75	190,90	5,9
33	67	M	4,28	49,18	249,65	7,2
34	66	M	3,79	116,90	217,15	4,6
35	12	H	4,62	100,16	292,75	7,9
36	69	M	6,75	90,42	285,19	8,7
37	75	M	4,20	117,85	290,70	9,1

**TABLA XI (CONTINUACION)**  
**NEFROPATIA ESTADIO I-II**

Nº	CREATININA URINARIA (mmol / dl)	ACLARAMIENTO CREATININA (ml / seg).	MICRO ALBUMINURIA (mg /g creatinina)	GAG (U/g creatinina)	β-GLUCURO NIDASA. (U/mg creatinina)
20	6,74	0,98	7,25	5,36	8,97
21	8,25	2,98	9,90	4,28	39,48
22	4,30	2,50	13,24	19,12	51,28
23	2,61	1,98	14,18	25,84	40,28
24	12,39	2,79	6,20	17,39	36,25
25	8,74	2,80	18,41	26,82	30,20
26	6,29	2,17	14,15	38,35	24,72
27	9,72	1,70	10,24	44,92	20,40
28	8,25	0,94	16,31	29,40	26,54
29	6,42	0,82	13,18	42,17	92,70
30	11,28	2,10	14,10	38,61	80,26
31	7,25	2,18	11,12	26,20	20,89
32	9,16	1,90	10,20	19,70	16,28
33	7,90	1,39	6,32	8,35	15,25
34	7,82	2,17	7,91	9,15	28,70
35	8,95	1,14	6,28	16,18	34,62
36	12,14	2,20	8,42	9,80	29,25
37	10,71	2,86	7,28	26,72	19,16

**TABLA XII**  
**NEFROPATIA ESTADIO I-II**

Nº	EDAD (años)	SEXO	UREA SERICA (mmol / l)	CREATININA SERICA ( $\mu$ mol / l)	ACIDO URICO SERICO ( $\mu$ mol / l)	Hb1c (%)
38	52	M	2,36	89,42	215,64	7,2
39	71	H	1,38	65,38	248,15	9,2
40	60	H	4,75	74,20	319,14	6,4
41	41	H	2,28	91,40	318,10	7,3
42	39	M	3,72	62,31	400,12	6,8
43	26	H	4,39	70,90	128,64	7,8
44	51	M	5,48	66,25	134,62	4,9
45	28	M	2,27	70,28	174,28	6,8
46	37	H	3,72	64,75	181,40	7,2
47	80	M	4,81	139,80	139,68	8,1
48	62	H	3,88	120,50	167,92	7,4
49	36	H	4,90	111,17	328,65	7,0
50	42	H	6,18	142,15	290,81	6,2
51	31	M	3,75	100,00	309,07	6,5
52	39	M	4,81	62,15	239,70	5,0
53	42	M	3,82	79,12	428,65	7,1
54	55	H	6,25	70,90	174,65	8,2
55	29	H	3,48	68,74	190,82	8,7

**TABLA XII (CONTINUACION)****NEFROPATIA ESTADIO I-II**

Nº	CREATININA URINARIA (mmol / dl)	ACLARAMIENTO CREATININA (ml / seg).	MICRO ALBUMINURIA (mg /g creatinina)	GAG (U/g creatinina)	β-GLUCURO NIDASA. (U/mg creatinina)
38	9,70	2,31	6,42	14,16	14,18
39	8,62	2,20	7,91	12,14	29,14
40	5,49	1,39	8,90	37,90	20,00
41	4,60	0,82	16,15	39,72	49,62
42	7,28	0,94	32,24	46,50	64,70
43	8,35	0,79	17,41	30,18	71,26
44	7,42	1,42	29,84	65,82	70,40
45	6,39	1,36	19,15	41,70	29,65
46	10,28	2,17	25,19	30,24	39,64
47	7,85	2,90	16,32	18,17	48,16
48	6,90	3,18	15,00	29,15	29,01
49	8,30	1,29	12,72	18,72	10,28
50	7,42	0,96	16,40	14,18	25,14
51	8,49	1,39	12,72	29,17	39,09
52	7,74	1,40	14,00	20,18	46,38
53	8,29	2,17	17,28	24,62	52,26
54	8,90	3,01	12,75	20,40	50,20
55	11,32	2,15	15,90	21,18	41,42

**TABLA XIII**  
**NEFROPATIA ESTADIO III**

Nº	EDAD (años)	SEXO	UREA SERICA (mmol / l)	CREATININA SERICA ( $\mu$ mol / l)	ACIDO URICO SERICO ( $\mu$ mol / l)	Hb1c (%)
1	72	H	7,90	126,80	417,35	7,9
2	49	M	6,85	139,17	291,84	6,8
3	61	M	7,25	145,70	290,70	8,9
4	74	M	6,30	96,35	138,65	7,8
5	65	M	4,25	82,71	239,62	11,4
6	48	H	7,28	70,40	318,17	9,8
7	39	M	9,74	94,74	310,90	7,2
8	62	H	4,32	101,72	382,71	6,4
9	79	H	5,98	82,95	295,17	8,3
10	29	H	6,39	134,62	469,74	7,4
11	74	M	4,28	128,65	215,18	8,6
12	62	H	6,39	161,39	239,74	7,0
13	39	H	7,82	115,18	268,14	8,2
14	65	M	5,61	96,18	209,70	7,0
15	72	H	5,28	90,40	107,25	7,2
16	40	M	6,39	72,85	134,28	9,5
17	71	M	4,70	111,15	196,75	8,6
18	64	M	6,81	109,18	180,60	9,1
19	69	H	7,39	141,78	315,80	6,9
20	58	H	4,60	140,20	328,79	9,7
21	64	M	6,28	110,18	180,25	6,4

**TABLA XIII (CONTINUACION)**  
**NEFROPATIA ESTADIO III**

Nº	CREATININA URINARIA (mmol / dl)	ACLARAMIENTO CREATININA (ml / seg).	MICRO ALBUMINURIA (mg / g creatinina)	GAG (U/g creatinina)	β-GLUCURO NIDASA. (U/mg creatinina)
1	7,72	1,19	40,98	47,29	54,17
2	8,25	1,90	59,65	32,75	96,18
3	5,39	2,17	74,28	34,98	28,14
4	6,28	0,30	130,20	49,26	29,70
5	5,48	1,16	166,25	48,72	104,60
6	6,28	0,94	96,70	14,31	80,25
7	7,91	0,45	198,17	71,25	29,74
8	6,42	0,95	85,89	17,64	42,25
9	10,12	0,39	214,10	97,18	90,92
10	8,32	0,78	294,70	61,00	85,46
11	5,91	0,84	218,19	70,28	79,60
12	6,24	1,39	90,90	21,90	48,74
13	7,90	1,26	80,64	79,82	29,19
14	8,96	0,94	135,18	96,25	30,22
15	6,34	0,84	210,90	69,82	88,60
16	5,29	0,39	301,40	74,25	70,25
17	4,20	2,18	69,75	60,92	40,22
18	1,29	2,14	96,30	49,70	68,30
19	6,29	1,98	70,28	14,17	29,14
20	4,30	0,91	216,25	78,26	36,42
21	7,28	1,96	126,15	19,74	20,64

**TABLA XIV**  
**NEFROPATIA ESTADIO III**

Nº	EDAD (años)	SEXO	UREA SERICA (mmol / l)	CREATININA SERICA (µmol / l)	ACIDO URICO SERICO (µmol / l)	Hb1c (%)
22	72	H	4,79	90,81	140,20	8,3
23	68	M	6,80	69,74	199,80	9,7
24	70	M	7,39	89,75	217,15	8,8
25	64	H	8,45	78,19	215,80	6,9
26	59	H	6,19	139,40	328,17	5,4
27	38	H	7,90	118,19	290,70	7,7
28	46	M	6,18	140,16	380,25	4,9
29	40	M	4,74	109,35	182,76	8,7
30	49	M	5,60	104,82	190,70	9,9
31	36	H	6,90	100,30	218,10	8,8
32	62	H	7,28	141,72	402,16	6,8
33	30	H	4,30	112,60	128,15	7,2
34	59	M	4,00	142,75	432,17	7,9
35	82	M	7,39	114,12	318,15	8,5
36	36	M	5,28	127,18	324,19	8,2
37	79	H	4,26	98,90	286,14	9,1
38	88	M	5,79	110,75	318,25	6,4
39	65	H	6,28	90,76	209,82	6,6
40	72	H	7,02	64,85	207,90	7,2
41	79	M	4,16	70,28	180,60	4,9
42	70	M	5,00	65,79	215,90	7,9
43	64	H	4,90	90,80	186,35	6,8

**TABLA XIV (CONTINUACION)**  
**NEFROPATIA ESTADIO III**

Nº	CREATININA URINARIA (mmol / dl)	ACLARAMIENTO CREATININA (ml / seg).	MICRO ALBUMINURIA (mg / g creatinina)	GAG (U/g creatinina)	β-GLUCURO NIDASA. (U/mg creatinina)
22	3,74	2,17	197,10	16,98	20,90
23	2,90	1,90	198,17	29,80	34,16
24	8,65	0,85	298,70	79,82	142,65
25	15,25	0,42	236,40	60,28	130,20
26	14,72	0,97	264,62	66,25	88,60
27	2,91	1,84	110,17	27,24	24,32
28	7,81	1,91	140,18	38,92	29,65
29	4,93	2,15	129,15	40,11	40,64
30	7,79	2,90	128,16	21,72	39,70
31	4,20	2,19	141,70	20,40	42,25
32	5,32	1,17	130,60	29,35	40,20
33	6,39	0,95	186,40	74,21	28,76
34	9,18	0,96	194,17	47,19	72,25
35	6,74	1,87	100,26	50,15	28,15
36	7,28	1,95	180,42	46,21	29,18
37	9,42	2,19	216,71	70,90	99,15
38	8,25	2,30	211,15	68,29	104,70
39	7,95	1,98	186,42	70,10	90,00
40	8,80	1,74	190,70	26,90	20,65
41	6,40	1,90	101,79	78,70	20,40
42	7,39	2,19	86,25	54,96	19,78
43	8,90	2,34	32,41	26,35	25,95

**TABLA XV**  
**NEFROPATIA ESTADIO IV**

Nº	EDAD (años)	SEXO	UREA SERICA (mmol / l)	CREATININA SERICA ( $\mu$ mol / l)	ACIDO URICO SERICO ( $\mu$ mol / l)	Hb1c (%)
1	72	H	9,86	139,16	216,15	8,2
2	64	M	12,35	142,10	198,14	9,7
3	71	M	16,25	139,86	190,70	10,1
4	48	H	12,42	194,18	189,75	11,9
5	59	M	11,17	290,40	490,64	7,8
6	64	H	14,16	191,17	525,39	6,9
7	70	H	9,60	98,74	216,15	9,8
8	68	H	8,75	140,15	290,70	6,8
9	59	M	6,92	110,22	216,28	7,8
10	60	M	4,85	134,36	215,18	6,9
11	71	M	14,19	216,35	526,34	6,0
12	49	M	16,32	296,02	439,18	9,8
13	60	H	7,20	69,78	191,42	7,9
14	71	H	8,32	89,64	182,70	7,7
15	68	M	6,28	73,14	190,90	6,0
16	60	H	8,34	60,80	182,10	4,9
17	74	H	10,25	184,16	418,16	9,7

**TABLA XV (CONTINUACION)**  
**NEFROPATIA ESTADIO IV**

Nº	CREATININA URINARIA (mmol / dl)	ACLARAMIENTO CREATININA (ml / seg).	MICRO ALBUMINURIA (mg / g creatinina)	GAG (U/g creatinina)	β-GLUCURO NIDASA. (U/mg creatinina)
1	6,28	0,28	390,80	162,39	140,60
2	7,92	0,74	428,70	129,68	166,15
3	11,39	0,92	390,65	139,65	96,39
4	6,25	0,40	428,70	120,42	80,26
5	7,28	0,16	516,35	102,14	139,62
6	6,80	0,72	418,25	94,16	70,26
7	7,39	0,81	420,15	79,82	114,12
8	3,16	0,31	509,60	85,24	70,20
9	4,18	1,32	296,75	99,78	65,82
10	6,91	0,30	465,82	59,60	64,39
11	7,80	0,20	430,28	140,60	70,28
12	10,32	0,39	480,60	70,92	82,25
13	2,25	1,26	391,70	38,64	40,24
14	1,74	1,39	380,16	21,39	19,12
15	3,98	0,24	672,24	100,00	210,13
16	6,91	0,94	296,30	20,42	49,86
17	7,00	0,70	368,25	34,62	39,55

**TABLA XV (CONTINUACION)**  
**NEFROPATIA ESTADIO IV**

Nº	CREATININA URINARIA (mmol / dl)	ACLARAMIENTO CREATININA (ml / seg).	MICRO ALBUMINURIA (mg / g creatinina)	GAG (U/g creatinina)	β-GLUCURO NIDASA. (U/mg creatinina)
1	6,28	0,28	390,80	162,39	140,60
2	7,92	0,74	428,70	129,68	166,15
3	11,39	0,92	390,65	139,65	96,39
4	6,25	0,40	428,70	120,42	80,26
5	7,28	0,16	516,35	102,14	139,62
6	6,80	0,72	418,25	94,16	70,26
7	7,39	0,81	420,15	79,82	114,12
8	3,16	0,31	509,60	85,24	70,20
9	4,18	1,32	296,75	99,78	65,82
10	6,91	0,30	465,82	59,60	64,39
11	7,80	0,20	430,28	140,60	70,28
12	10,32	0,39	480,60	70,92	82,25
13	2,25	1,26	391,70	38,64	40,24
14	1,74	1,39	380,16	21,39	19,12
15	3,98	0,24	672,24	100,00	210,13
16	6,91	0,94	296,30	20,42	49,86
17	7,00	0,70	368,25	34,62	39,55

**TABLA XVI**  
**NEFROPATIA ESTADIO IV**

Nº	EDAD (años)	SEXO	UREA SERICA (mmol / l)	CREATININA SERICA ( $\mu$ mol / l)	ACIDO URICO SERICO ( $\mu$ mol / l)	Hb1c (%)
18	80	M	11,92	190,40	396,85	9,7
19	42	H	6,92	126,35	419,25	6,5
20	49	M	4,98	139,82	390,70	8,6
21	64	M	7,62	180,28	289,70	8,9
22	78	M	8,34	164,28	388,65	9,4
23	69	H	9,82	190,40	549,75	9,2
24	70	H	12,41	199,75	488,62	7,3
25	65	M	7,82	116,35	328,62	8,5
26	63	H	9,75	96,38	390,60	9,4
27	79	H	6,25	80,25	218,15	9,0
28	62	H	7,28	70,90	416,25	10,7
29	60	H	6,30	62,65	328,16	11,1
30	69	M	4,20	70,28	320,60	6,9
31	68	M	8,26	182,16	439,85	11,0
32	72	H	5,91	124,60	216,75	7,0

**TABLA XVI (CONTINUACION)**  
**NEFROPATIA ESTADIO IV**

Nº	CREATININA URINARIA (mmol / dl)	ACLARAMIENTO CREATININA (ml / seg).	MICRO ALBUMINURIA (mg / g creatinina)	GAG (U/g creatinina)	β-GLUCURO NIDASA. (U/mg creatinina)
18	4,79	0,54	318,29	91,74	94,70
19	7,25	0,72	482,75	96,34	86,58
20	4,28	0,90	390,10	40,20	29,14
21	6,39	0,87	390,15	190,80	139,46
22	4,63	1,30	418,10	29,78	164,26
23	5,28	1,96	480,72	88,66	139,15
24	6,70	0,25	216,25	120,18	68,80
25	4,82	1,72	365,28	89,16	70,90
26	4,90	0,94	428,29	179,70	134,25
27	7,28	1,28	290,82	38,16	90,90
28	6,70	1,39	310,15	49,65	45,86
29	10,11	1,42	420,65	42,70	139,16
30	4,90	1,90	440,62	170,20	130,20
31	5,80	0,94	379,86	68,26	98,72
32	7,90	0,32	416,25	70,26	67,84

## II) ESTUDIO ESTADISTICO

Con relación a la edad, en la tabla XVII y en la figura 7 se pueden observar la media, DE, EEM de cada uno de los diferentes grupos de estudio.

El numero de casos según el sexo y su proporción lo expresamos en la tabla XVIII y figura 8.

### A) COMPARACIÓN DE MEDIAS VARIABLE A VARIABLE.

Los parámetros bioquímicos estudiados han sido:

#### a) *Urea sérica.*

Los resultados obtenidos al realizar la media, DE y EEM son los que se expresan en la tabla XIX y figura 9. Como existen diferencias significativas entre los distintos grupos, se añaden en la tabla XX estas comparaciones.

#### b) *Ácido úrico sérico.*

Se exponen en la tabla XXI y figura 10. Al igual que con la urea sérica, existen diferencias significativas entre grupos, que exponemos en la tabla XXII.

#### c) *Creatinina sérica.*

Los resultados globales del estudio estadístico se encuentran en la tabla XXIII y en la figura 11. Como en los parámetros anteriores las diferencias entre grupos estan en la tabla XXIV.

#### d) *Creatinina urinaria.*

La media, DE y EEM en cada uno de los grupos de pacientes con diabetes mellitus y en los controles sanos se expresan en la tabla XXV y figura 12. Las diferencias entre grupos en la tabla XXVI.

#### e) *Aclaramiento de creatinina.*

Se expone en la tabla XXVII y figura 13. Conforme avanza el grado de nefropatía, el aclaramiento se hace menor, existiendo diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y los Estadios III y IV de la nefropatía y entre los Estadios I-II y IV y Estadios III y IV (tabla XXVIII).

#### f) *Albuminuria.*

Los resultados globales del estudio se exponen en la tabla XXIX y en la figura 14. La comparación entre los diferentes grupos en la tabla XXX.

#### g) *Hemoglobina glicosilada.*

En la tabla XXXI y figura 15 exponemos los datos referentes a esta determinación analítica y la comparación entre grupos en la tabla XXXII.

#### h) *Beta-glucuronidasa.*

De forma global los resultados que hemos obtenido se exponen en la tabla XXXIII y figura 16.

Agrupamos todos los pacientes diabéticos, se compararon con controles sanos existiendo diferencias significativas (tabla XXXIV y figura 17). Mucho más interés tiene el comparar los diferentes grupos entre sí:

Los controles sanos se comparan con los diabéticos en Estadio I-II (tabla XXXV y figura 18) con diferencias estadísticamente significativas entre ambos ( $p < 0,05$ ).

Al comparar los controles sanos con los diabéticos en Estadio III la significación fue para  $p < 0,01$  (tabla XXXVI y figura 19). Igual ocurre al comparar los sanos con los diabéticos en el Estadio IV con  $p < 0,001$  (tabla XXXVII y figura 20).

También quisimos comparar los diferentes grupos de pacientes diabéticos. Se encuentran diferencias significativas entre los enfermos en Estadio I-II y Estadio III ( $p < 0,01$ ) como se exponen en la tabla XXXVIII y figura 21, entre los Estadios I-II y Estadio IV ( $p < 0,002$ ) en la tabla XXXIX y figura 22, y entre los Estadios III y Estadio IV ( $p < 0,01$ ) en la tabla XL y figura 23.

#### *i) Glucosaminoglicanos.*

De forma global los resultados obtenidos se exponen en la tabla XLI y figura 24. Se observa un ascenso creciente de los glucosaminoglicanos conforme el estadio de la nefropatía diabética es mayor.

Agrupados todos los pacientes diabéticos se comparan sus resultados con los obtenidos en los controles sanos, existiendo diferencias significativas ( $p < 0,001$ ) como se puede comprobar en la tabla XLII y figura 25.

Al igual que hicimos con la  $\beta$ -glucuronidasa, comparamos los resultados obtenidos en los controles normales y en los diferentes grupos de pacientes diabéticos. Se observan diferencias significativas entre los controles sanos y los diabéticos en Estadio I-II (tabla XLIII y figura 26), controles sanos y diabéticos en Estadio III (tabla XLIV y figura 27) y controles sanos con diabéticos en Estadio IV (tabla XLV y fig. 28).

Así mismo comparamos los resultados obtenidos entre los distintos grupos de diabéticos. También existieron diferencias significativas entre los enfermos en Estadio I-II y Estadio III (tabla XLVI y figura 29), Estadio I-II y Estadio IV (tabla XLVII y figura 30) y Estadio III y Estadio IV (tabla XLVIII y figura 31).

## **B) CORRELACION ENTRE VARIABLES.**

Se correlacionan las diversas variables del estudio: edad, urea sérica, ácido úrico sérico, creatinina sérica, creatinina urinaria, aclaramiento de creatinina, albuminuria y hemoglobina glicosilada con los dos parámetros bioquímicos motivo de este trabajo, es decir, la  $\beta$ -glucuronidasa y los GAG.

Con relación a la  $\beta$ -glucuronidasa no existió correlación con el resto de las variables en el grupo de los controles sanos (tabla IL) y en el de diabéticos en Estadio I-II (tabla L). En el grupo de pacientes con nefropatía en Estadio III, existió correlación con la creatinina urinaria y albuminuria (tabla LI). En los diabéticos en Estadio IV esta correlación fue con urea sérica, creatinina urinaria, aclaramiento de creatinina y albuminuria (tabla LII).

Si estudiamos los glucosaminoglicanos observamos que no existe ninguna correlación con el resto de los parámetros estudiados en el grupo de los controles sanos (tabla LIII) y diabéticos en Estadio I-II (tabla LIV).

Existió correlación con la creatinina urinaria, aclaramiento de creatinina y albuminuria en el Estadio III (tabla LV) y con el ácido úrico sérico, creatinina urinaria, aclaramiento de creatinina y albuminuria en el Estadio IV (tabla LVI).

Por último también quisimos comprobar si existía correlación entre la  $\beta$ -glucuronidasa y los glucosaminoglicanos. En los controles sanos no había significación. En los diabéticos existió en todos los grupos, con una  $p < 0,01$ , como se expresa en la tabla LVII y se representa en la figura 32.

## TABLA XVII

### DISTRIBUCION DE LA EDAD\* EN LOS DIFERENTES GRUPOS ESTUDIADOS

	<b>CONTROLES SANOS</b>	<b>NEFROPATIA DIABÉTICA</b>		
		<b>ESTADIO I-II</b>	<b>ESTADIO III</b>	<b>ESTADIO IV</b>
<b>N°</b>	64	55	43	32
<b>M</b>	60,8	57,7	60,0	64,9
<b>DE</b>	11,8	17,6	15,2	8,9
<b>EEM</b>	1,4	2,3	2,3	1,5

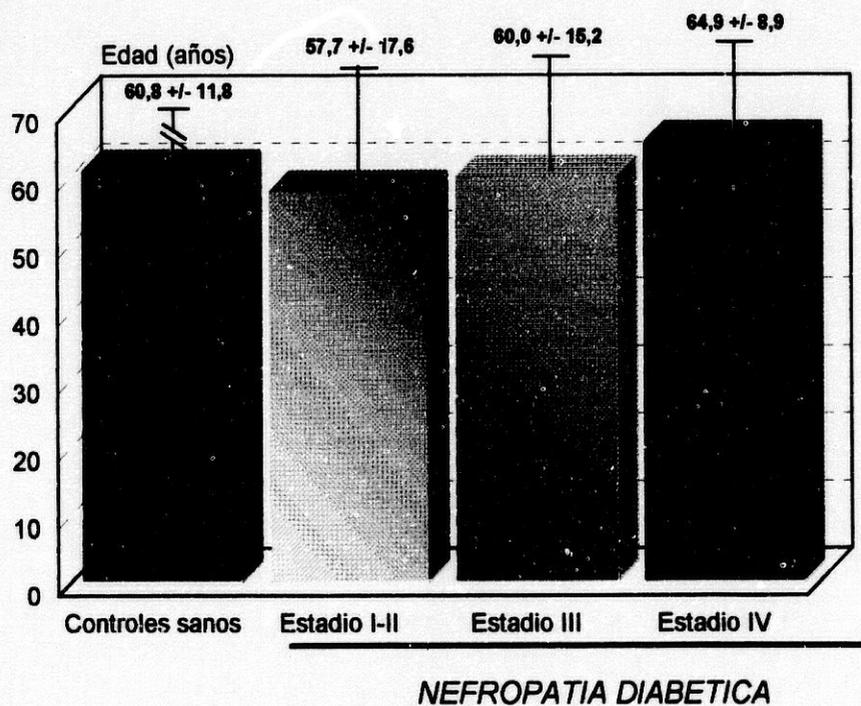
\* Edad en años

N°- N° de casos.

M- Media.

DE- Desviación Estándar.

EEM- Error Estándar de la Media.

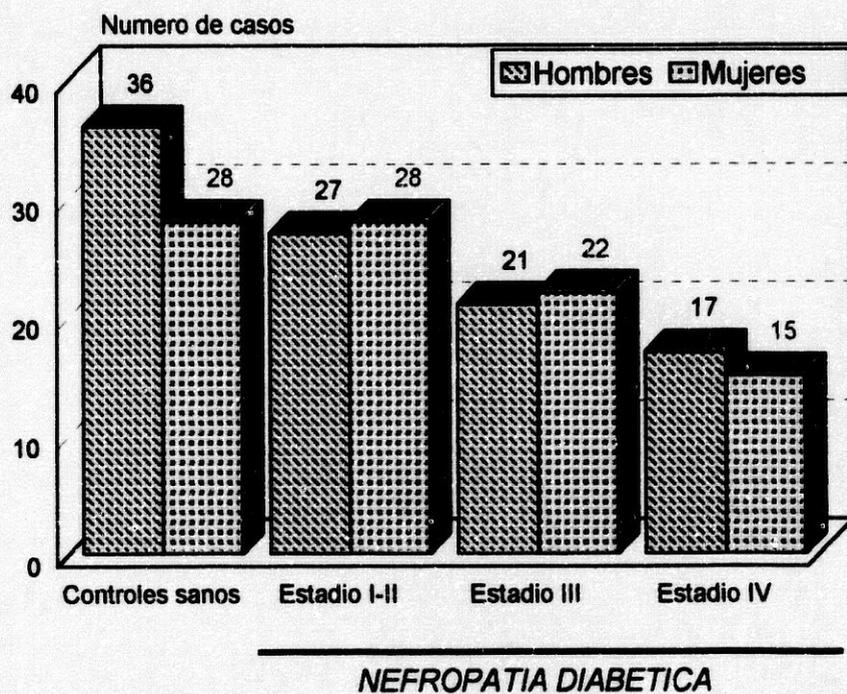


**FIGURA 7:** *Distribucion de la edad en los diferentes grupos estudiados*

### TABLA XVIII

#### DISTRIBUCION SEGUN EL SEXO EN LOS GRUPOS ESTUDIADOS

	<b>CONTROLES SANOS</b>	<b>NEFROPATIA DIABÉTICA</b>		
		<b>ESTADIO I-II</b>	<b>ESTADIO III</b>	<b>ESTADIO IV</b>
<i>Hombres</i>	36 (56,3%)	27 (49,1%)	21 (48,8%)	17 (53,1%)
<i>Mujeres</i>	28 (43,7%)	28 (50,9%)	22 (51,2%)	15 (46,9%)



**FIGURA 8:** *Distribucion del sexo segun grupos estudiados*

## TABLA XIX

### ESTUDIO DE LA UREA SERICA\* EN LOS DIFERENTES GRUPOS ESTUDIADOS

	<b>CONTROLES SANOS</b>	<b>ESTADIO I-II</b>	<b>NEFROPATIA DIABÉTICA ESTADIO III</b>	<b>ESTADIO IV</b>
<i>N°</i>	64	55	43	32
<i>M</i>	4,69	4,35	6,10	9,22
<i>DE</i>	1,42	1,47	1,36	3,20
<i>EEM</i>	0,18	0,2	0,21	0,57

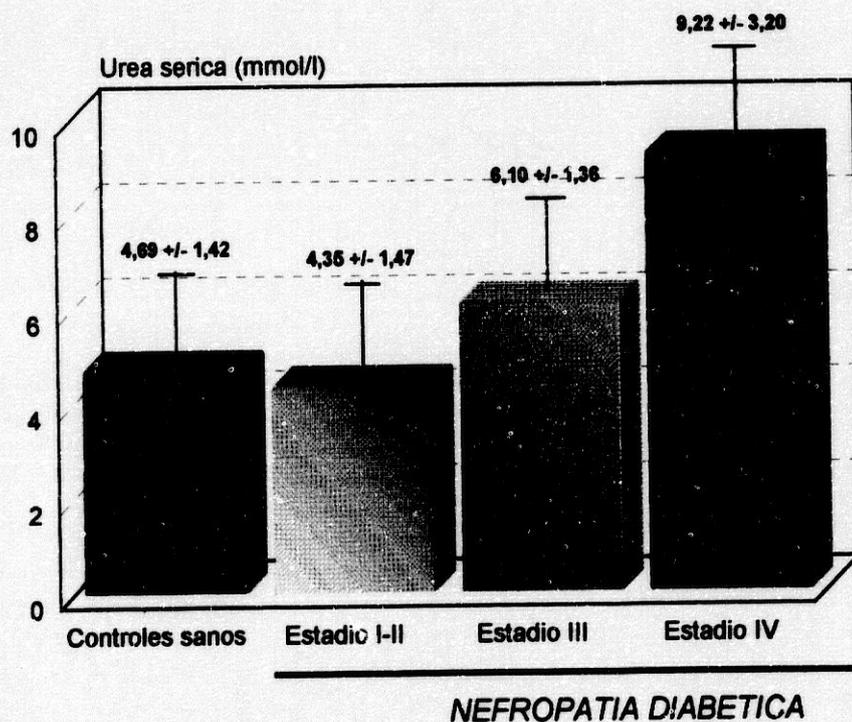
\* Urea sérica en mmol/l

N°- N° de casos.

M- Media.

DE- Desviación Estándar.

EEM- Error Estándar de la Media.



**FIGURA 9:** Urea serica en los diferentes grupos estudiados

**TABLAXX****COMPARACION DE LA UREA SERICA ENTRE LOS  
DIFERENTES GRUPOS**

<b>CONTROL</b>	<b>ESTADIO I-II</b>	<b>0,007</b>	<b>NS</b>
<b>CONTROL</b>	<b>ESTADIO III</b>	<b>3,095</b>	<b>NS</b>
<b>CONTROL</b>	<b>ESTADIO IV</b>	<b>28,578</b>	
<b>ESTADIO I-II</b>	<b>ESTADIO III</b>	<b>2,791</b>	<b>NS</b>
<b>ESTADIO I-II</b>	<b>ESTADIO IV</b>	<b>24,349</b>	
<b>ESTADIO III</b>	<b>ESTADIO IV</b>	<b>22,566</b>	

F = F experimental.

P = nivel de significación.

NS = no significativo.

## TABLA XXI

### ACIDO URICO SERICO\* EN LOS DIFERENTES GRUPOS ESTUDIADOS

	<b>CONTROLES SANOS</b>	<b>NEFROPATIA DIABÉTICA</b>		
		<b>ESTADIO I-II</b>	<b>ESTADIO III</b>	<b>ESTADIO IV</b>
<b>N°</b>	64	55	43	32
<b>M</b>	274,83	254,73	258,25	326,95
<b>DE</b>	66,47	81,82	88,47	121,46
<b>EEM</b>	8,31	11,03	13,49	21,47

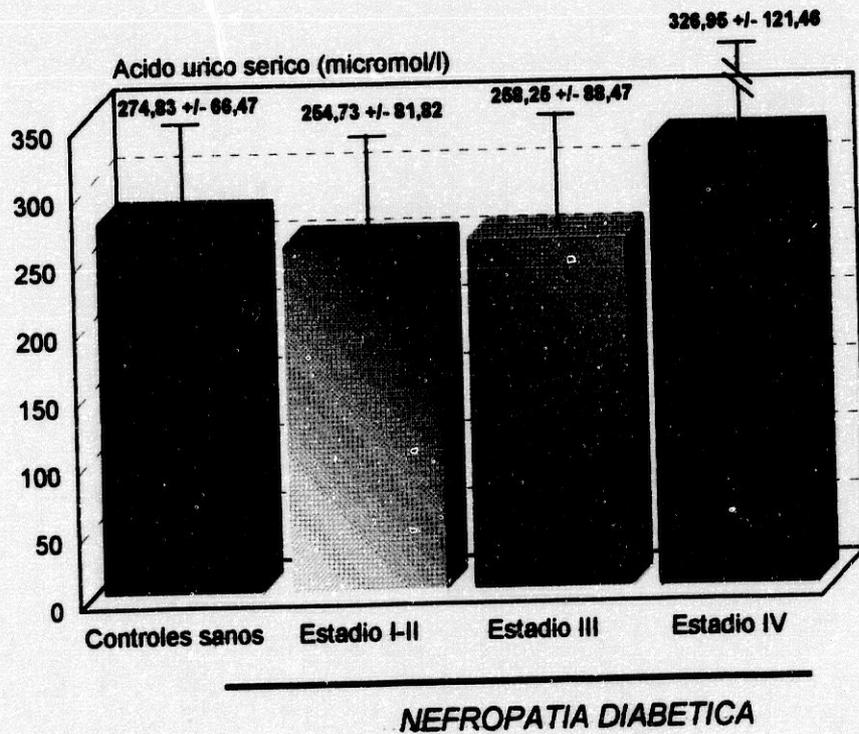
\*Expresado en  $\mu\text{mol/l}$

N°- N° de casos.

M- Media.

DE- Desviación Estándar.

EEM- Error Estándar de la Media.



**FIGURA 10:** *Acido urico serico en los diferentes grupos estudiados*

**TABLA XXII****COMPARACION DEL AC. URICO SERICO ENTRE LOS  
DIFERENTES GRUPOS**

<i>CONTROL</i>	<i>ESTADIO I-II</i>	<i>2,562</i>	<i>NS</i>
<i>CONTROL</i>	<i>ESTADIO III</i>	<i>2,217</i>	<i>NS</i>
<i>CONTROL</i>	<i>ESTADIO IV</i>	<i>29,940</i>	
<i>ESTADIO I-II</i>	<i>ESTADIO III</i>	<i>0,706</i>	<i>NS</i>
<i>ESTADIO I-II</i>	<i>ESTADIO IV</i>	<i>13,018</i>	
<i>ESTADIO III</i>	<i>ESTADIO IV</i>	<i>7,494</i>	

F = F experimental.

P = nivel de significación.

NS = no significativo.

### TABLA XXIII

#### CREATININA SERICA\* EN LOS DIFERENTES GRUPOS ESTUDIADOS

	<i>CONTROLES SANOS</i>	<i>NEFROPATIA DIABÉTICA</i>		
		<i>ESTADIO I-II</i>	<i>ESTADIO III</i>	<i>ESTADIO IV</i>
<i>Nº</i>	64	55	43	32
<i>M</i>	93,13	95,78	107,52	142,66
<i>DE</i>	18,18	28,92	25,53	61,07
<i>EEM</i>	2,27	3,90	3,89	10,80

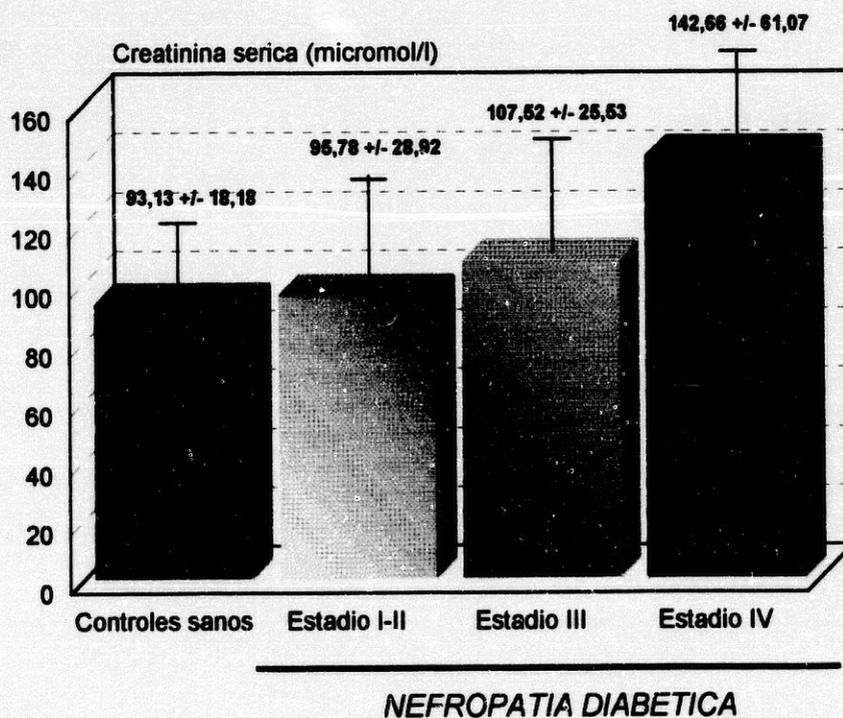
\*Expresado en  $\mu\text{mol/l}$

Nº- Nº de casos.

M- Media.

DE- Desviación Estándar.

EEM- Error Estándar de la Media.



**FIGURA 11:** *Creatinina serica en los diferentes grupos estudiados*

**TABLA XXIV****COMPARACION DE LA CREATININA SERICA ENTRE LOS  
DIFERENTES GRUPOS**

<i>CONTROL</i>	<i>ESTADIO I-II</i>	<i>1,513</i>	<i>NS</i>
<i>CONTROL</i>	<i>ESTADIO III</i>	<i>2,916</i>	<i>NS</i>
<i>CONTROL</i>	<i>ESTADIO IV</i>	<i>25,444</i>	
<i>ESTADIO I-II</i>	<i>ESTADIO III</i>	<i>0,925</i>	<i>NS</i>
<i>ESTADIO I-II</i>	<i>ESTADIO IV</i>	<i>17,782</i>	
<i>ESTADIO III</i>	<i>ESTADIO IV</i>	<i>9,239</i>	

F = F experimental.

P = nivel de significación.

NS = no significativo.

## TABLA XXV

### CREATININA URINARIA\* EN LOS DIFERENTES GRUPOS ESTUDIADOS

	<i>CONTROLES SANOS</i>	<i>NEFROPATIA DIABÉTICA</i>		
		<i>ESTADIO I-II</i>	<i>ESTADIO III</i>	<i>ESTADIO IV</i>
<i>Nº</i>	64	55	43	32
<i>M</i>	6,87	9,11	7,01	6,23
<i>DE</i>	3,37	3,11	2,62	2,15
<i>EEM</i>	0,42	0,42	0,40	0,38

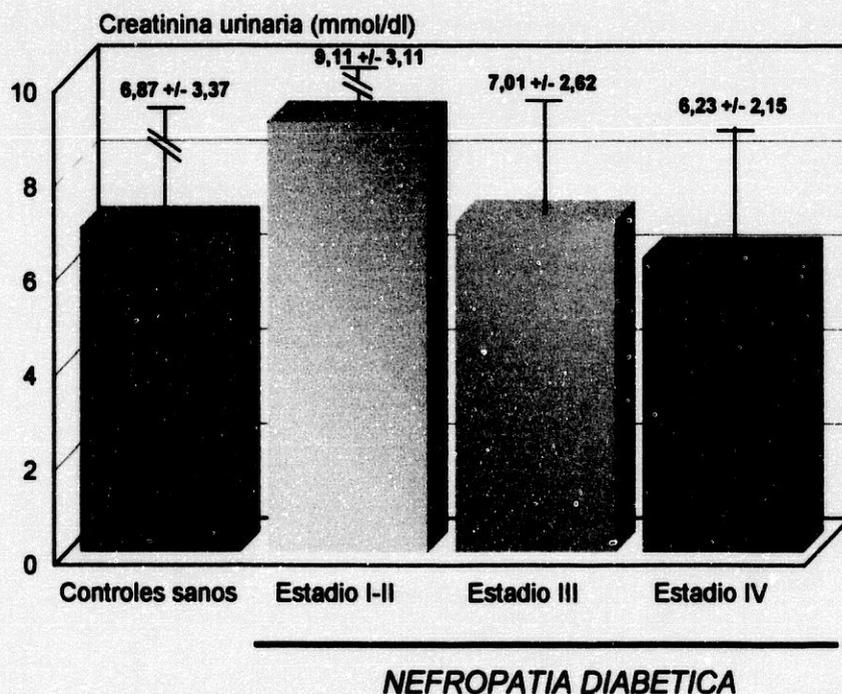
\*Expresado en mmol/dl

Nº- Nº de casos.

M- Media.

DE- Desviación Estándar.

EEM- Error Estándar de la Media.



**FIGURA 12:** *Creatinina urinaria en los diferentes grupos estudiados*

**TABLA XXVI****COMPARACION DE LA CREATININA URINARIA ENTRE LOS  
DIFERENTES GRUPOS**

<b>CONTROL</b>	<b>ESTADIO I-II</b>	<b>10,156</b>	
<b>CONTROL</b>	<b>ESTADIO III</b>	<b>2,499</b>	<b>NS</b>
<b>CONTROL</b>	<b>ESTADIO IV</b>	<b>0,790</b>	<b>NS</b>
<b>ESTADIO I-II</b>	<b>ESTADIO III</b>	<b>8,312</b>	
<b>ESTADIO I-II</b>	<b>ESTADIO IV</b>	<b>12,193</b>	
<b>ESTADIO III</b>	<b>ESTADIO IV</b>	<b>0,437</b>	<b>NS</b>

**F** = F experimental.

**P** = nivel de significación.

**NS** = no significativo.

## TABLA XXVII

### ACLARAMIENTO DE CREATININA\* EN LOS DIFERENTES GRUPOS ESTUDIADOS

	<b>CONTROLES SANOS</b>	<b>NEFROPATIA DIABÉTICA</b>		
		<b>ESTADIO I-II</b>	<b>ESTADIO III</b>	<b>ESTADIO IV</b>
<b>N°</b>	<b>64</b>	<b>55</b>	<b>43</b>	<b>32</b>
<b>M</b>	<b>1,91</b>	<b>1,84</b>	<b>1,49</b>	<b>0,86</b>
<b>DE</b>	<b>0,77</b>	<b>0,72</b>	<b>0,68</b>	<b>0,51</b>
<b>EEM</b>	<b>0,15</b>	<b>0,10</b>	<b>0,10</b>	<b>0,09</b>

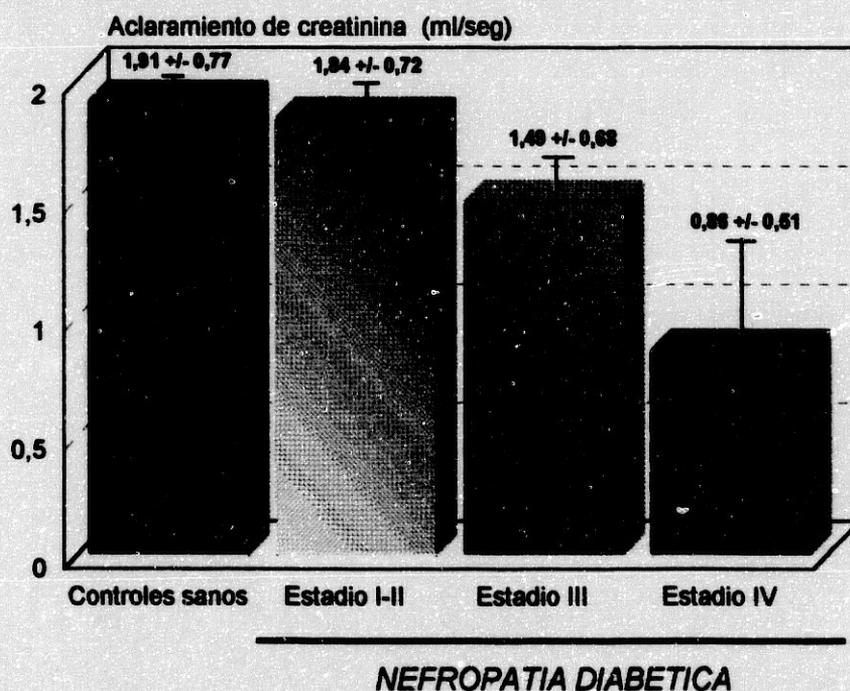
\*Expresado en ml/seg

N°- N° de casos.

M- Media.

DE- Desviación Estándar.

EEM- Error Estándar de la Media.



**FIGURA 13: Aclaramiento de creatinina en los diferentes grupos estudiados**

**TABLA XXVIII****COMPARACION DEL ACLARAMIENTO DE CREATININA  
ENTRE LOS DIFERENTES GRUPOS**

<b>CONTROL</b>	<b>ESTADIO I-II</b>	<b>8,899</b>	<b>NS</b>
<b>CONTROL</b>	<b>ESTADIO III</b>	<b>7,474</b>	
<b>CONTROL</b>	<b>ESTADIO IV</b>	<b>14,869</b>	
<b>ESTADIO I-II</b>	<b>ESTADIO III</b>	<b>2,531</b>	<b>NS</b>
<b>ESTADIO I-II</b>	<b>ESTADIO IV</b>	<b>8,079</b>	
<b>ESTADIO III</b>	<b>ESTADIO IV</b>	<b>7,695</b>	

F = F experimental.

P = nivel de significación.

NS = no significativo.

## TABLA XXIX

### ALBUMINURIA\* EN LOS DIFERENTES GRUPOS ESTUDIADOS

	<i><b>CONTROLES SANOS</b></i>	<i><b>NEFROPATIA DIABÉTICA</b></i>		
		<i><b>ESTADIO I-II</b></i>	<i><b>ESTADIO III</b></i>	<i><b>ESTADIO IV</b></i>
<i><b>N°</b></i>	<b>64</b>	<b>55</b>	<b>43</b>	<b>32</b>
<i><b>M</b></i>	<b>9,72</b>	<b>16,13</b>	<b>154,38</b>	<b>407,30</b>
<i><b>DE</b></i>	<b>20,07</b>	<b>11,19</b>	<b>70,50</b>	<b>83,13</b>
<i><b>EEM</b></i>	<b>2,51</b>	<b>1,51</b>	<b>10,75</b>	<b>14,70</b>

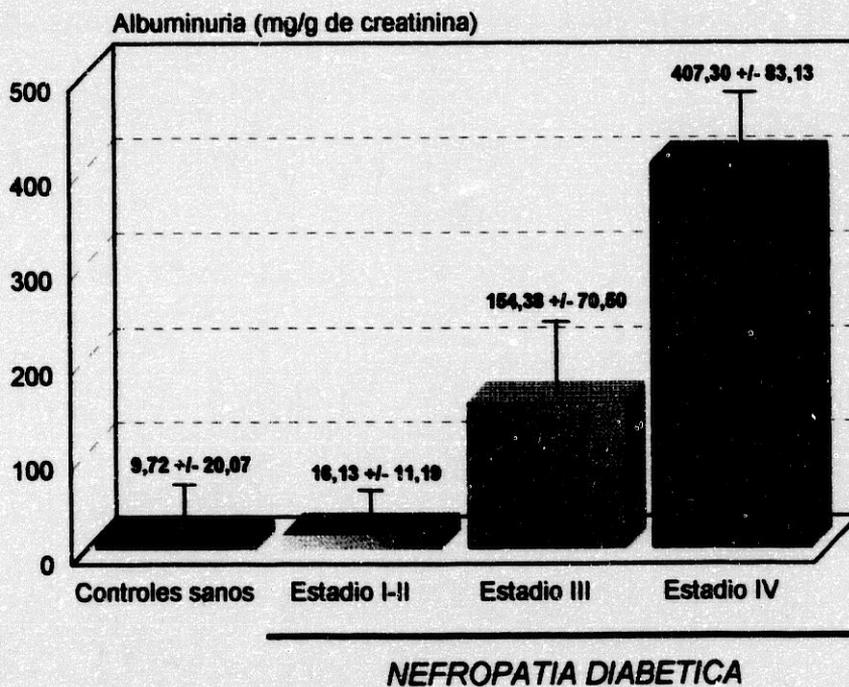
\*Expresado en mg/g de creatinina

N°- N° de casos.

M- Media.

DE- Desviación Estándar.

EEM- Error Estándar de la Media.



**FIGURA 14:** *Albuminuria en los diferentes grupos estudiados*

**TABLA XXX**

**COMPARACION DE LA ALBUMINURIA ENTRE LOS  
DIFERENTES GRUPOS**

<i>CONTROL</i>	<i>ESTADIO I-II</i>	<i>0,742</i>	<i>NS</i>
<i>CONTROL</i>	<i>ESTADIO III</i>	<i>9,546</i>	<i>&lt; 0,001</i>
<i>CONTROL</i>	<i>ESTADIO IV</i>	<i>18,559</i>	<i>&lt; 0,001</i>
<i>ESTADIO I-II</i>	<i>ESTADIO III</i>	<i>8,134</i>	<i>&lt; 0,01</i>
<i>ESTADIO I-II</i>	<i>ESTADIO IV</i>	<i>14,414</i>	<i>&lt; 0,01</i>
<i>ESTADIO III</i>	<i>ESTADIO IV</i>	<i>7,632</i>	<i>&lt; 0,01</i>

F = F experimental.

P = nivel de significación.

NS = no significativo.

**TABLA XXXI**

**HEMOGLOBINA GLICOSILADA\* EN LOS DIFERENTES GRUPOS ESTUDIADOS**

	<i>CONTROLES SANOS</i>	<i>NEFROPATIA DIABÉTICA</i>		
		<i>ESTADIO I-II</i>	<i>ESTADIO III</i>	<i>ESTADIO IV</i>
<i>Nº</i>	64	55	43	32
	4,77	7,22	7,83	8,47
<i>M</i>		1,34	1,37	1,68
<i>EEM</i>	<i>DE</i>	0,18	0,21	0,30

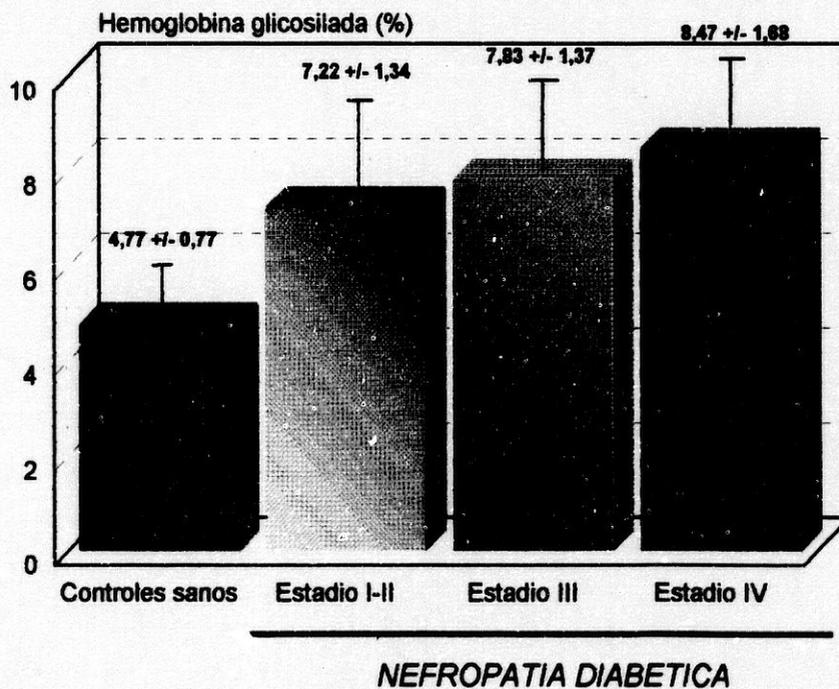
\*Expresado en %

Nº- Nº de casos.

M- Media.

DE- Desviación Estándar.

EEM- Error Estándar de la Media.



**FIGURA 15: Hemoglobina glicosilada en los diferentes grupos estudiados**

**TABLA XXXII****COMPARACION DE LA HEMOGLOBINA GLICOSILADA ENTRE  
LOS DIFERENTES GRUPOS**

<i>CONTROL</i>	<i>ESTADIO I-II</i>	<i>8,932</i>	
<i>CONTROL</i>	<i>ESTADIO III</i>	<i>9,913</i>	
<i>CONTROL</i>	<i>ESTADIO IV</i>	<i>15,740</i>	
<i>ESTADIO I-II</i>	<i>ESTADIO III</i>	<i>0,322</i>	<i>NS</i>
<i>ESTADIO I-II</i>	<i>ESTADIO IV</i>	<i>3,299</i>	<i>NS</i>
<i>ESTADIO III</i>	<i>ESTADIO IV</i>	<i>2,472</i>	<i>NS</i>

F = F experimental.

P = nivel de significación.

NS = no significativo.

### TABLA XXXIII

## BETA-GLUCURONIDASA\* EN LOS DIFERENTES GRUPOS ESTUDIADOS

	<b>CONTROLES SANOS</b>	<b>NEFROPATIA DIABÉTICA</b>		
		<b>ESTADIO I-II</b>	<b>ESTADIO III</b>	<b>ESTADIO IV</b>
<i>N°</i>	64	55	43	32
<i>M</i>	25,46	32,35	54,77	114,29
<i>DE</i>	11,13	19,21	33,09	117,43
<i>EEM</i>	1,39	2,59	5,05	20,76

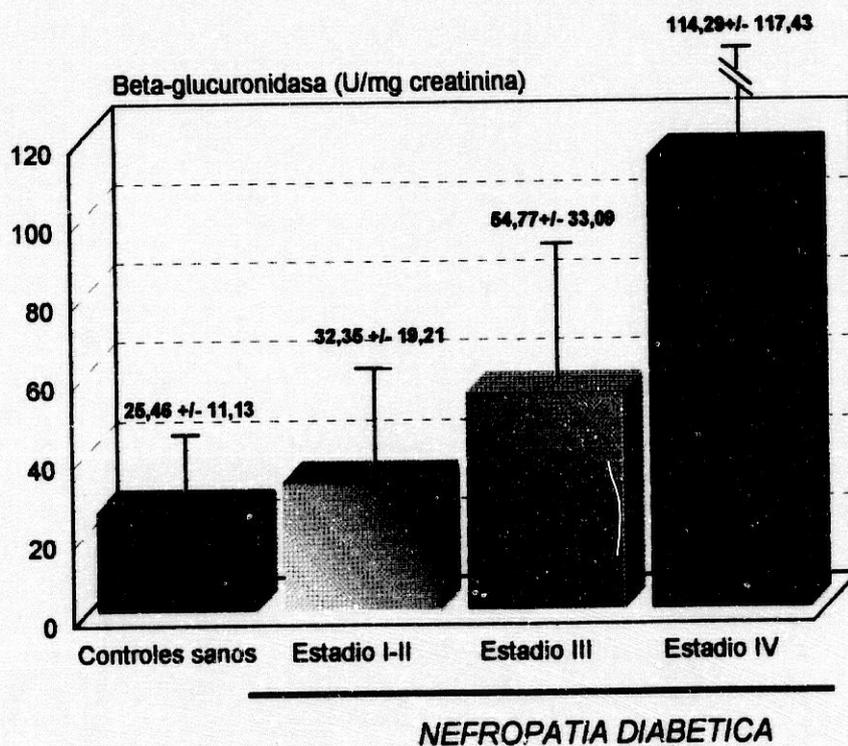
\*Expresado en U/mg de creatinina

N°- N° de casos.

M- Media.

DE- Desviación Estándar.

EEM- Error Estándar de la Media.



**FIGURA 16:** *Beta-glucuronidasa en los diferentes grupos estudiados*

### TABLA XXXIV

#### COMPARACION DE LA BETA-GLUCURONIDASA\* ENTRE CONTROLES SANOS Y PACIENTES CON NEFROPATIA DIABETICA

	<b>CONTROLES SANOS</b>		<b>NEFROPATIA DIABETICA</b>
<i>N°</i>	64		130
<i>M</i>	25,46		59,93
<i>DE</i>	11,13		69,93
<i>EEM</i>	1,39		6,13
<i>F</i>		15,729	
<i>P</i>		< 0,01	

\*Expresado en U/mg de creatinina

N°- N° de casos.

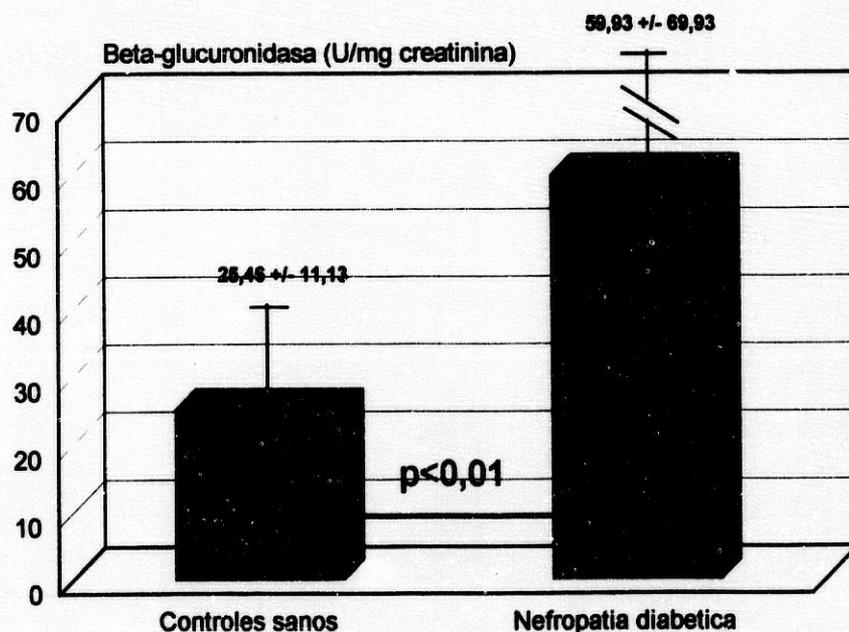
M- Media.

DE- Desviación Estándar.

EEM- Error Estándar de la Media.

F- F Experimental.

P- Nivel de Significación.



**FIGURA 17:** *Beta-glucuronidasa: comparacion entre controles y  
pacientes con nefropatia diabética*

**TABLA XXXIV**

**COMPARACION DE LA BETA-GLUCURONIDASA\*  
ENTRE CONTROLES SANOS Y PACIENTES CON  
NEFROPATIA DIABETICA**

	<b>CONTROLES SANOS</b>		<b>NEFROPATIA DIABETICA</b>
<i>N°</i>	64		130
<i>M</i>	25,46		59,93
<i>DE</i>	11,13		69,93
<i>EEM</i>	1,39		6,13
<i>F</i>		15,729	
<i>P</i>		< 0,01	

\*Expresado en U/mg de creatinina

N°- N° de casos.

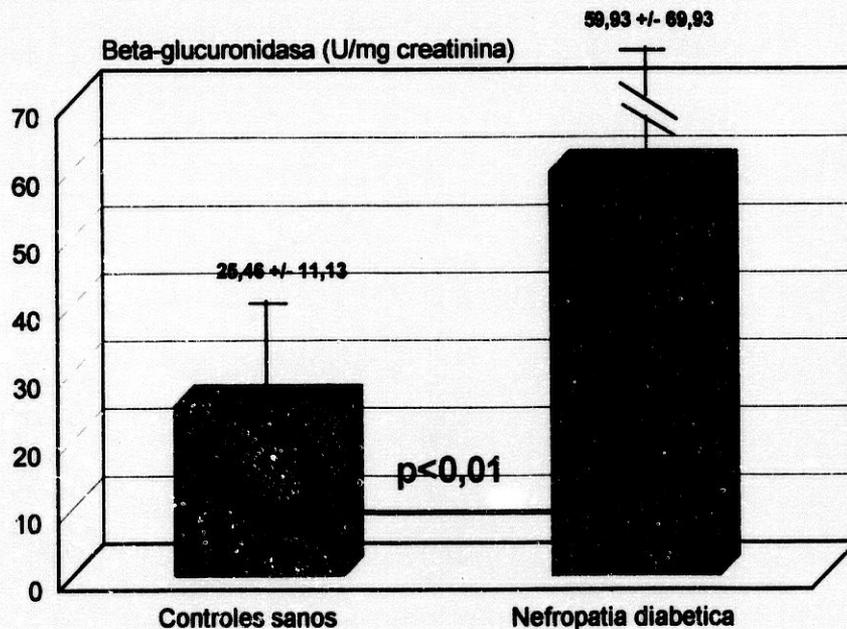
M- Media.

DE- Desviación Estándar.

EEM- Error Estándar de la Media.

F- F Experimental.

P- Nivel de Significación.



**FIGURA 17: Beta-glucuronidasa: comparacion entre controles y  
pacientes con nefropatia diabetica**

**TABLA XXXV**

**COMPARACION DE LA BETA-GLUCURONIDASA\*  
ENTRE CONTROLES SANOS Y PACIENTES CON  
NEFROPATIA DIABETICA ESTADIO I-II**

	<b>CONTROLES SANOS</b>	<b>NEFROPATIA DIABETICA ESTADIO I-II</b>
<i>N°</i>	64	50
<i>M</i>	25,46	32,35
<i>DE</i>	11,13	19,21
<i>EEM</i>	1,39	2,59
<i>F</i>		11,379
<i>P</i>		< 0,05

\*Expresado en U/mg de creatinina

*N°*- N° de casos.

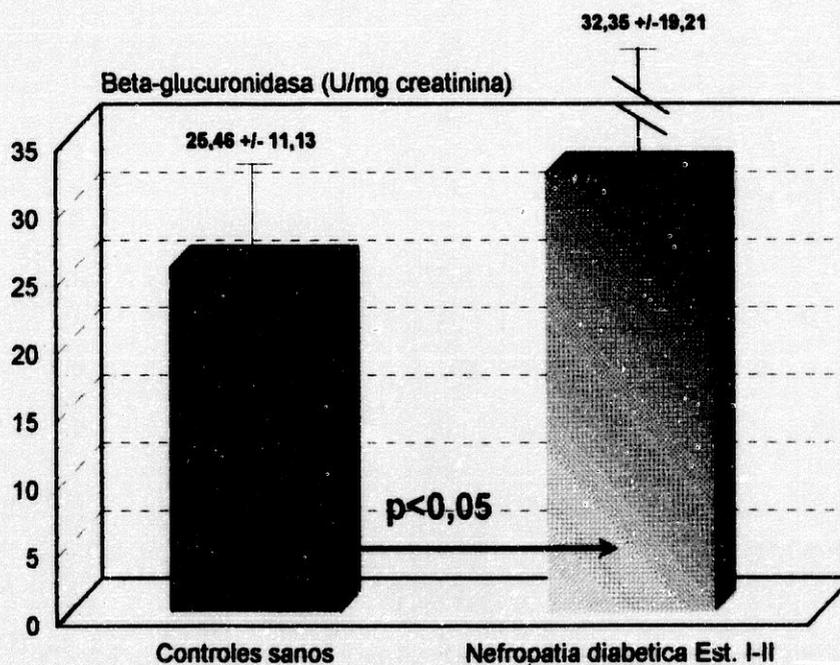
*M*- Media.

*DE*- Desviación Estándar.

*EEM*- Error Estándar de la Media.

*F*- F Experimental.

*P*- Nivel de Significación.



**FIGURA 18: Beta-glucuronidasa: comparacion entre controles sanos y nefropatia diabetica estadio I-II**

### TABLA XXXVI

#### **COMPARACION DE LA BETA-GLUCURONIDASA\* ENTRE CONTROLES SANOS Y PACIENTES CON NEFROPATIA DIABETICA ESTADIO III**

	<b>CONTROLES SANOS</b>		<b>NEFROPATIA DIABETICA ESTADIO III</b>
<i>N°</i>	64		43
<i>M</i>	25,46		54,77
<i>DE</i>	11,13		33,09
<i>EEM</i>	1,39		5,05
<i>F</i>		17,481	
<i>P</i>		< 0,01	

\*Expresado en U/mg de creatinina

N°- N° de casos.

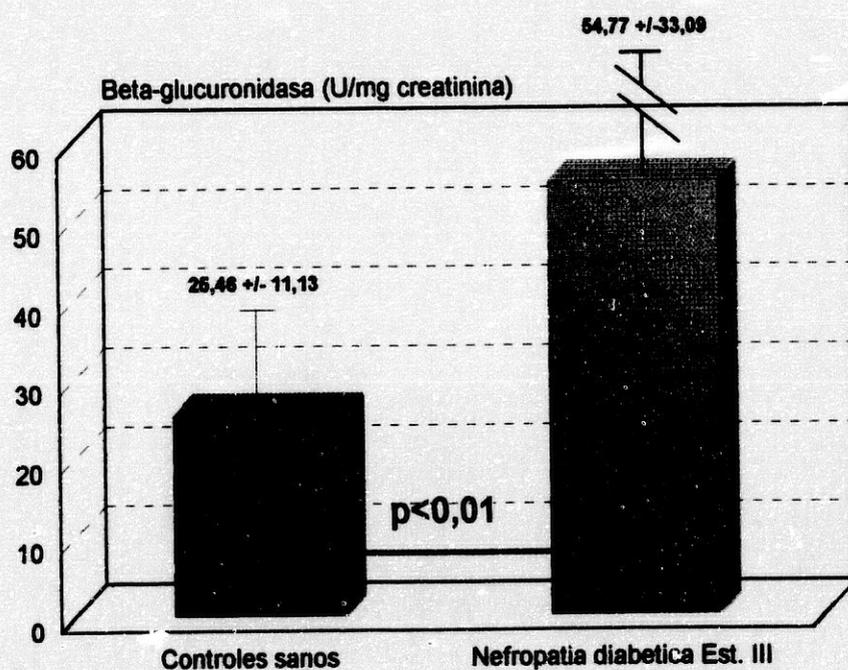
M- Media.

DE- Desviación Estándar.

EEM- Error Estándar de la Media.

F- F Experimental.

P- Nivel de Significación.



**FIGURA 19: Beta-glucuronidasa: comparacion entre controles sanos y nefropatia diabetica estadio III**

**TABLA XXXVII**

**COMPARACION DE LA BETA-GLUCURONIDASA\*  
ENTRE CONTROLES SANOS Y PACIENTES CON  
NEFROPATIA DIABETICA ESTADIO IV**

	<b>CONTROLES SANOS</b>	<b>NEFROPATIA DIABETICA ESTADIO IV</b>
<b>N°</b>	64	32
<b>M</b>	25,46	114,29
<b>DE</b>	11,13	117,43
<b>EEM</b>	1,39	20,76
<b>F</b>		26,184
<b>P</b>		< 0,001

\*Expresado en U/mg de creatinina

N°- N° de casos.

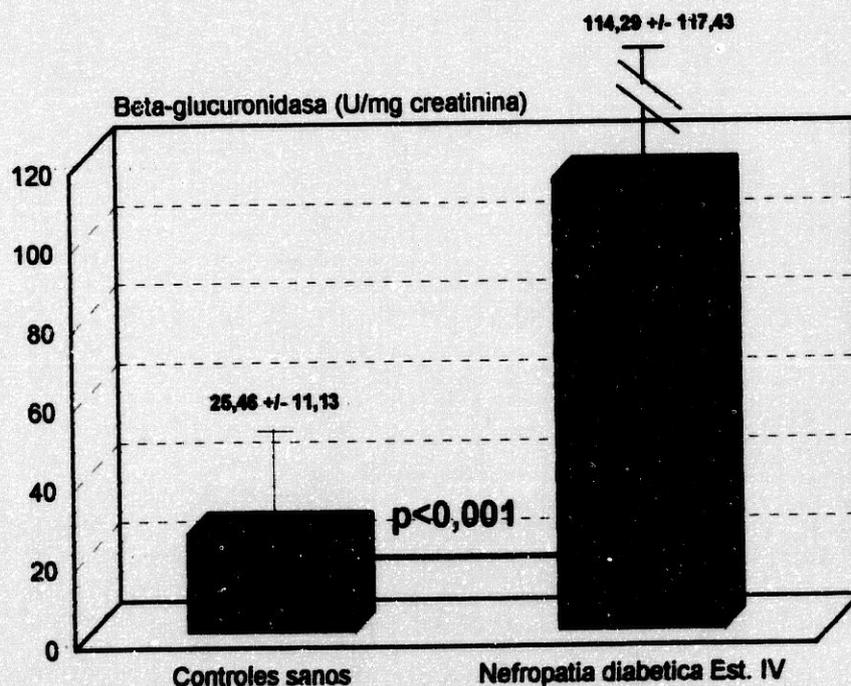
M- Media.

DE- Desviación Estándar.

EEM- Error Estándar de la Media.

F- F Experimental.

P- Nivel de Significación.



**FIGURA 20: Beta-glucuronidasa: comparacion entre controles sanos y nefropatia diabetesca estadio IV**

### TABLA XXXVIII

## COMPARACION DE LA BETA-GLUCURONIDASA\* ENTRE PACIENTES CON NEFROPATIA DIABETICA ESTADIO I-II Y ESTADIO III

<b>NEFROPATIA DIABETICA</b>		
	<b>ESTADIO I-II</b>	<b>ESTADIO III</b>
<b>N°</b>	55	43
<b>M</b>	32,35	54,77
<b>DE</b>	19,21	33,09
<b>EEM</b>	2,59	5,05
<b>F</b>	13,563	
<b>P</b>	< 0,01	

\* Expresado en U/mg de creatinina

N°- N° de casos.

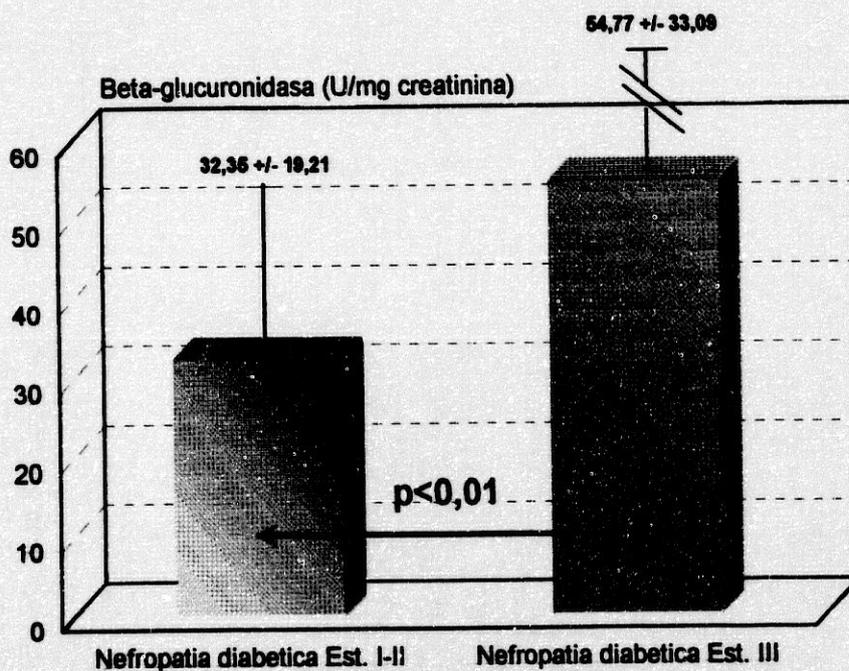
M- Media.

DE- Desviación Estándar.

EEM- Error Estándar de la Media.

F- F Experimental.

P- Nivel de Significación.



**FIGURA 21:** *Beta-glucuronidasa: comparacion entre pacientes con nefropatia diabetesca estadio I-II y estadio III*

### TABLA XXXIX

#### COMPARACION DE LA BETA-GLUCURONIDASA\* ENTRE PACIENTES CON NEFROPATIA DIABETICA ESTADIO I-II Y ESTADIO IV

<b>NEFROPATIA DIABETICA</b>		
	<b>ESTADIO I-II</b>	<b>ESTADIO IV</b>
<b>N°</b>	55	32
<b>M</b>	32,35	114,29
<b>DE</b>	19,21	117,43
<b>EEM</b>	2,59	20,76
<b>F</b>	10,716	
<b>P</b>	< 0,002	

\*Expresado en U/mg de creatinina

N°- N° de casos.

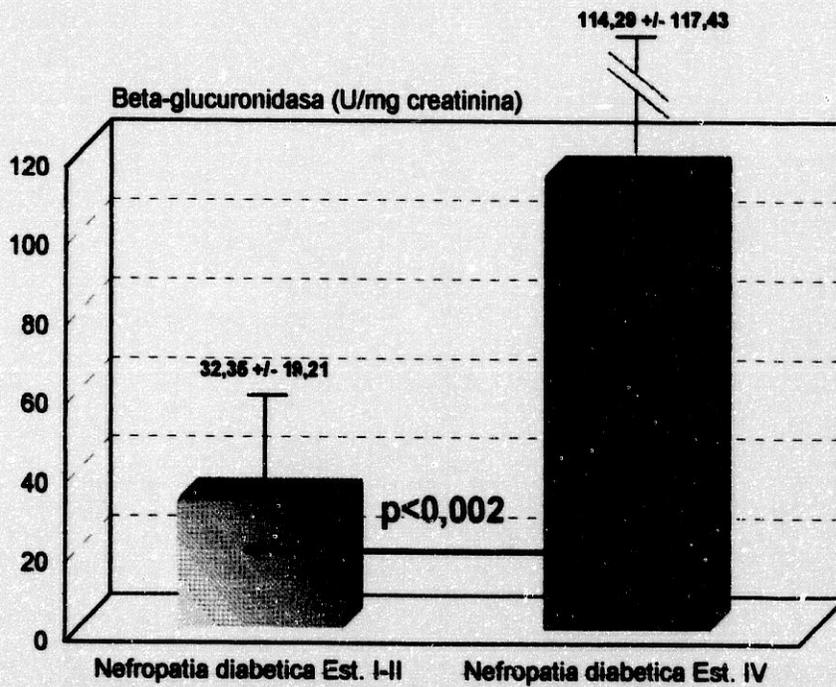
M- Media.

DE- Desviación Estándar.

EEM- Error Estándar de la Media.

F- F Experimental.

P- Nivel de Significación.



**FIGURA 22: Beta-glucuronidasa: comparacion entre pacientes con nefropatia diabetica estadio I-II y estadio IV**

**TABLA XL**

**COMPARACION DE LA BETA-GLUCURONIDASA\*  
ENTRE PACIENTES CON NEFROPATIA DIABETICA  
ESTADIO III Y ESTADIO IV**

<b>NEFROPATIA DIABETICA</b>		
	<b>ESTADIO III</b>	<b>ESTADIO IV</b>
<b>N°</b>	43	32
<b>M</b>	54,77	114,29
<b>DE</b>	33,09	117,43
<b>EEM</b>	5,05	20,76
<b>F</b>		13,982
<b>P</b>		< 0,01

\*Expresado en U/mg de creatinina

N°- N° de casos.

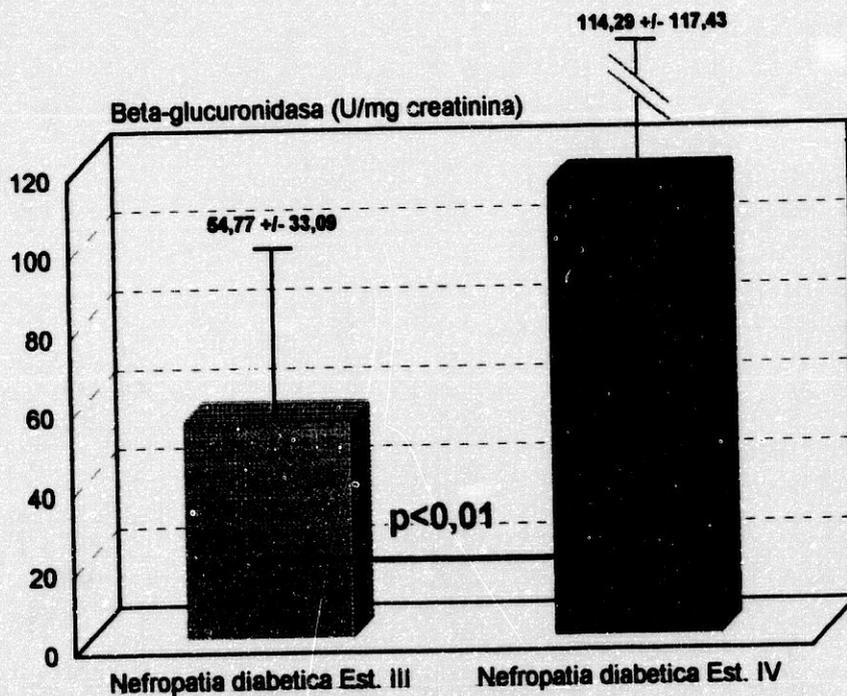
M- Media.

DE- Desviación Estándar.

EEM- Error Estándar de la Media.

F- F Experimental.

P- Nivel de Significación.



**FIGURA 23: Beta-glucuronidasa: comparacion entre pacientes con nefropatia diabetesca estadio III y estadio IV**

## TABLA XLI

### GLUCOSAMINOGLICANOS\* EN LOS DIFERENTES GRUPOS ESTUDIADOS

	<i>CONTROLES SANOS</i>	<i>NEFROPATIA DIABÉTICA</i>		
		<i>ESTADIO I-II</i>	<i>ESTADIO III</i>	<i>ESTADIO IV</i>
<i>N°</i>	64	55	43	32
<i>M</i>	12,86	24,58	50,10	89,54
<i>DE</i>	7,00	13,60	23,55	47,15
<i>EEM</i>	0,89	1,83	3,59	8,33

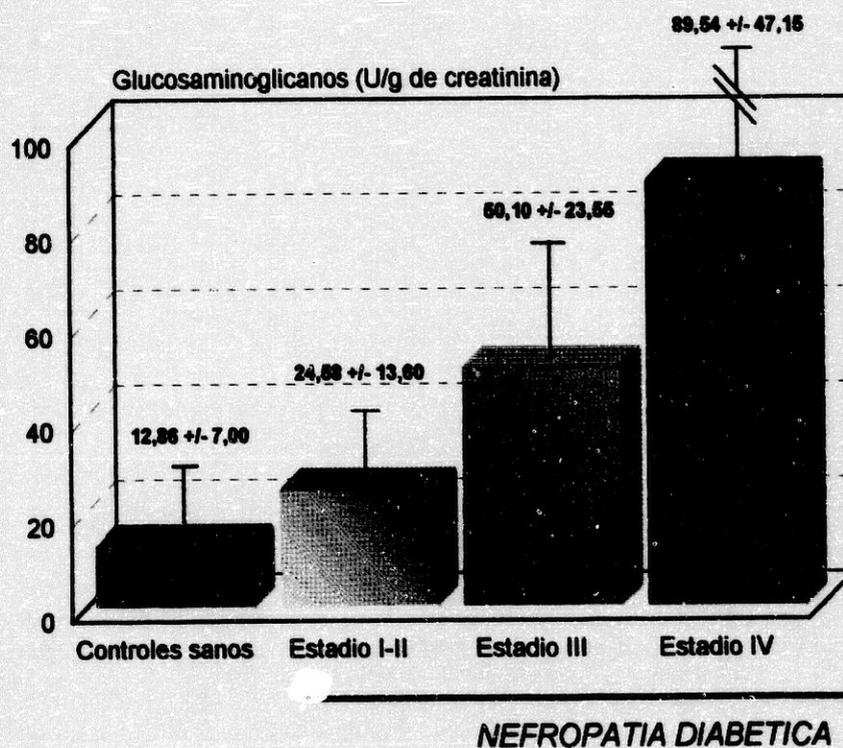
\*Expresado en U/g de creatinina

N°- N° de casos.

M- Media.

DE- Desviación Estándar.

EEM- Error Estándar de la Media.



**FIGURA 24:** *Glucosaminoglicanos en los diferentes grupos estudiados*

**TABLA XLII**

**COMPARACION DE LOS GLUCOSAMINOGLICANOS\*  
ENTRE CONTROLES SANOS Y PACIENTES CON  
NEFROPATIA DIABETICA**

	<b>CONTROLES SANOS</b>		<b>NEFROPATIA DIABETICA</b>
<b>N°</b>	<b>64</b>		<b>130</b>
<b>M</b>	<b>12,86</b>		<b>49,01</b>
<b>DE</b>	<b>7,00</b>		<b>38,13</b>
<b>EEM</b>	<b>0,89</b>		<b>3,34</b>
<b>F</b>		<b>60,059</b>	
<b>P</b>		<b>&lt; 0,001</b>	

\*Expresado en U/g de creatinina

N°- N° de casos.

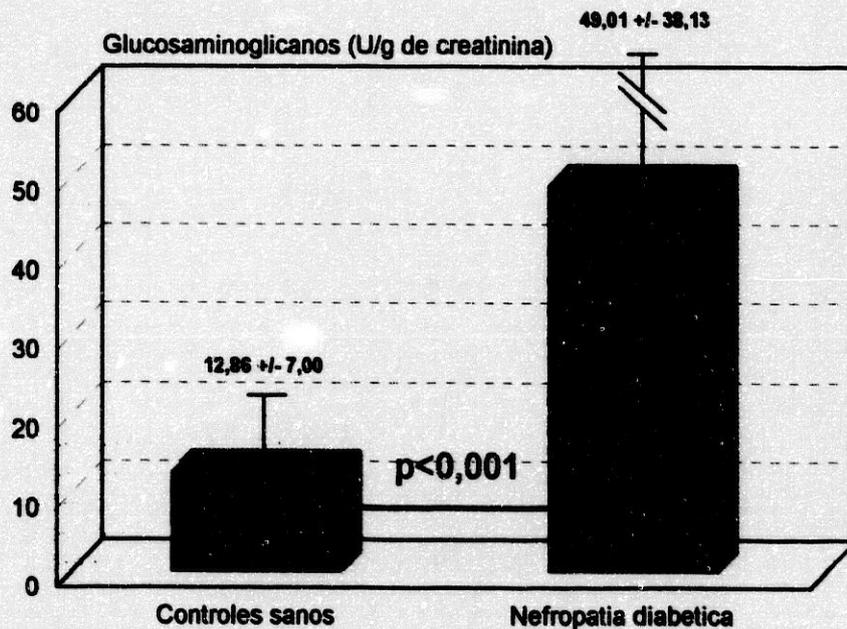
M- Media.

DE- Desviación Estándar.

EEM- Error Estándar de la Media.

F- F Experimental.

P- Nivel de Significación.



**FIGURA 25: Glucosaminoglicanos: comparacion entre controles y nefropatia diabetica**

### TABLA XLIII

#### COMPARACION DE LOS GLUCOSAMINOGLICANOS\* ENTRE CONTROLES SANOS Y PACIENTES CON NEFROPATIA DIABETICA ESTADIO I-II

	<b>CONTROLES SANOS</b>	<b>NEFROPATIA DIABETICA ESTADIO I-II</b>
<b>N°</b>	64	55
<b>M</b>	12,86	24,58
<b>DE</b>	7,00	13,60
<b>EEM</b>	0,89	1,83
<b>F</b>		13,339
<b>P</b>		< 0,001

\*Expresado en U/g de creatinina

N°- N° de casos.

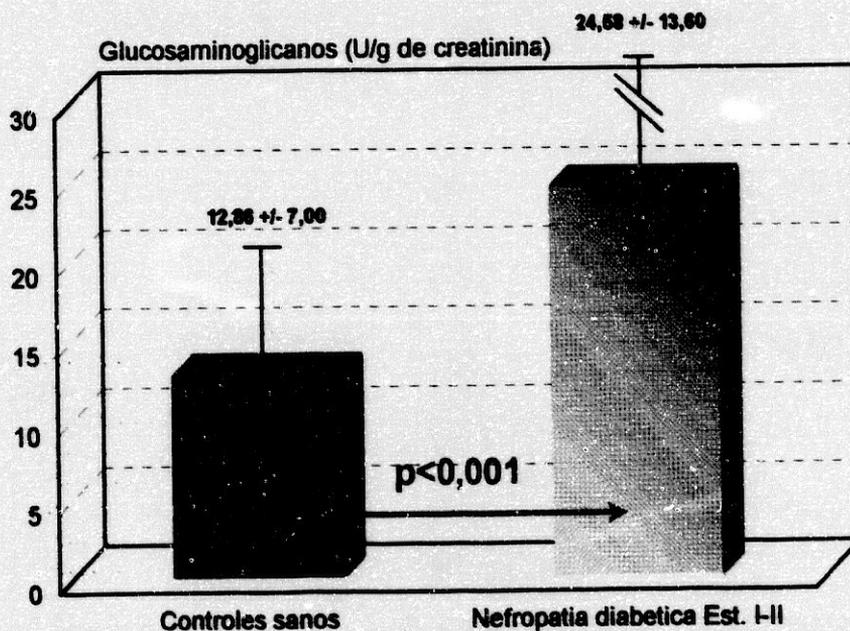
M- Media.

DE- Desviación Estándar.

EEM- Error Estándar de la Media.

F- F Experimental.

P- Nivel de Significación.



**FIGURA 26:** *Glucosaminoglicanos: comparacion entre controles y nefropatia diabetesca estadio I-II*

**TABLA XLIV**

**COMPARACION DE LOS GLUCOSAMINOGLICANOS\*  
ENTRE CONTROLES SANOS Y PACIENTES CON  
NEFROPATIA DIABETICA ESTADIO III**

	<b>CONTROLES SANOS</b>	<b>NEFROPATIA DIABETICA ESTADIO III</b>
<b>N°</b>	64	43
<b>M</b>	12,86	50,10
<b>DE</b>	7,00	23,55
<b>EEM</b>	0,89	3,59
<b>F</b>		29,986
<b>P</b>		< 0,001

\*Expresado en U/g de creatinina

N°- N° de casos.

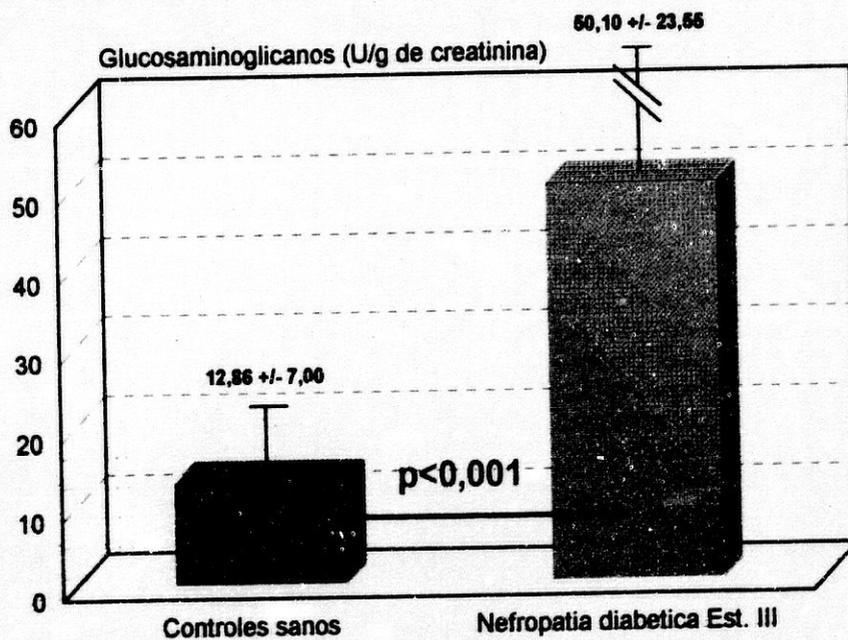
M- Media.

DE- Desviación Estándar.

EEM- Error Estándar de la Media.

F- F Experimental.

P- Nivel de Significación.



**FIGURA 27: Glucosaminoglicanos: comparacion entre controles y nefropatia diabetesica estadio III**

**TABLA XLV**

**COMPARACION DE LOS GLUCOSAMINOGLICANOS\*  
ENTRE CONTROLES SANOS Y PACIENTES CON  
NEFROPATIA DIABETICA ESTADIO IV**

	<b>CONTROLES SANOS</b>	<b>NEFROPATIA DIABETICA ESTADIO IV</b>
<b>N°</b>	64	32
<b>M</b>	12,86	89,54
<b>DE</b>	7,00	47,15
<b>EEM</b>	0,89	8,33
<b>F</b>		38,437
<b>P</b>		< 0,001

\*Expresado en U/g de creatinina

N°- N° de casos.

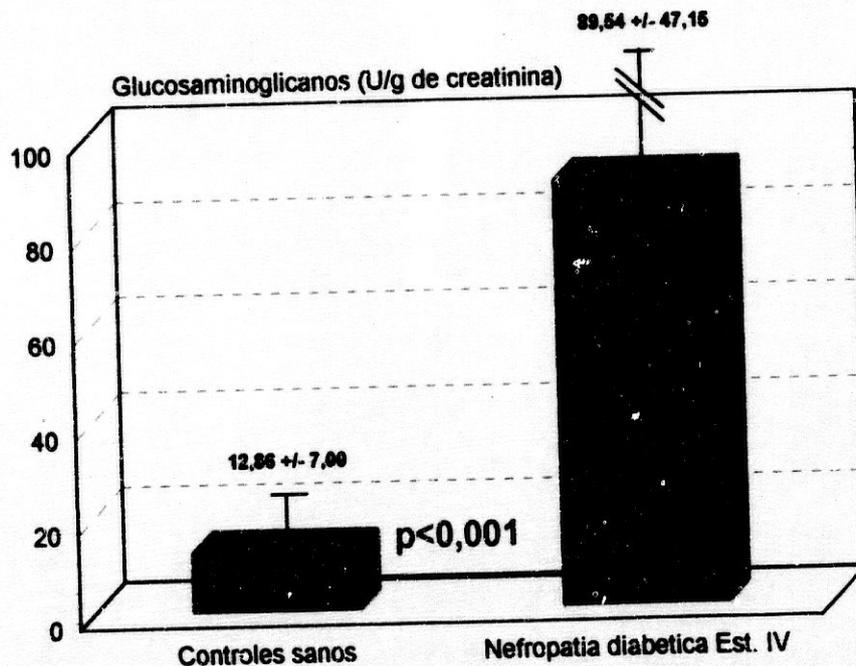
M- Media.

DE- Desviación Estándar.

EEM- Error Estándar de la Media.

F- F Experimental.

P- Nivel de Significación.



**FIGURA 28: Glucosaminoglicanos: comparacion entre controles y nefropatia diabetes estadio IV**

**TABLA XLVI**

**COMPARACION DE LOS GLUCOSAMINOGLICANOS\*  
ENTRE PACIENTES CON NEFROPATIA DIABETICA  
ESTADIO I-II Y ESTADIO III**

<b>NEFROPATIA DIABETICA</b>		
	<b>ESTADIO I-II</b>	<b>ESTADIO III</b>
<b>N°</b>	55	43
<b>M</b>	24,58	50,10
<b>DE</b>	13,60	23,55
<b>EEM</b>	1,83	3,59
<b>F</b>		10,270
<b>P</b>		< 0,01

\*Expresado en U/g de creatinina

N°- N° de casos.

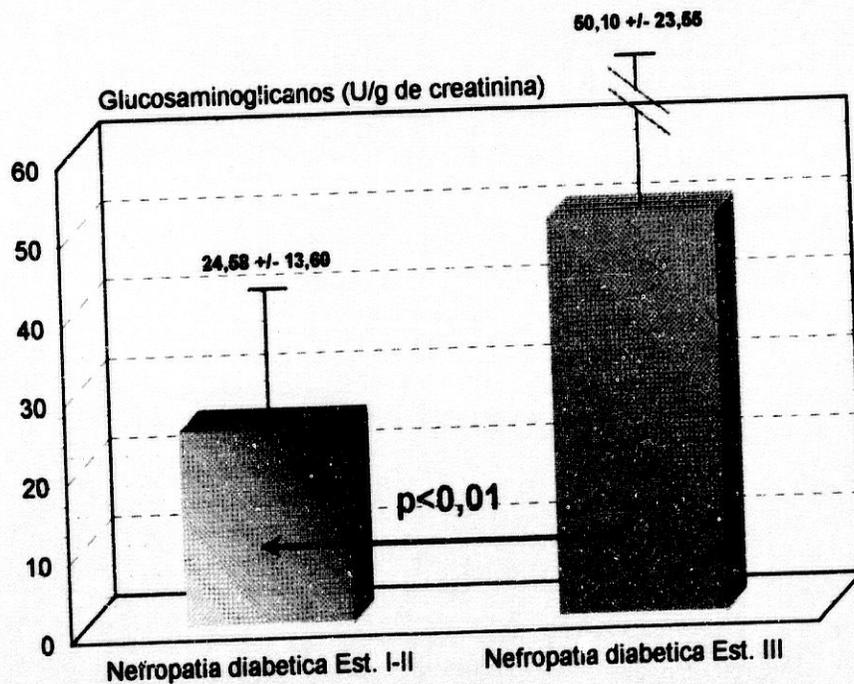
M- Media.

DE- Desviación Estándar.

EEM- Error Estándar de la Media.

F- F Experimental.

P- Nivel de Significación.



**FIGURA 29: Glucosaminoglicanos: comparacion entre pacientes con nefropatia diabetica estadio I-II y estadio III**

**TABLA XLVII**

**COMPARACION DE LOS GLUCOSAMINOGLICANOS\*  
ENTRE PACIENTES CON NEFROPATIA DIABETICA  
ESTADIO I-II Y ESTADIO IV**

<b>NEFROPATIA DIABETICA</b>		
	<b>ESTADIO I-II</b>	<b>ESTADIO IV</b>
<b>N°</b>	55	32
<b>M</b>	24,58	89,54
<b>DE</b>	13,60	47,15
<b>EEM</b>	1,83	8,33
<b>F</b>	22,103	
<b>P</b>	< 0,001	

\*Expresado en U/g de creatinina

N°- N° de casos.

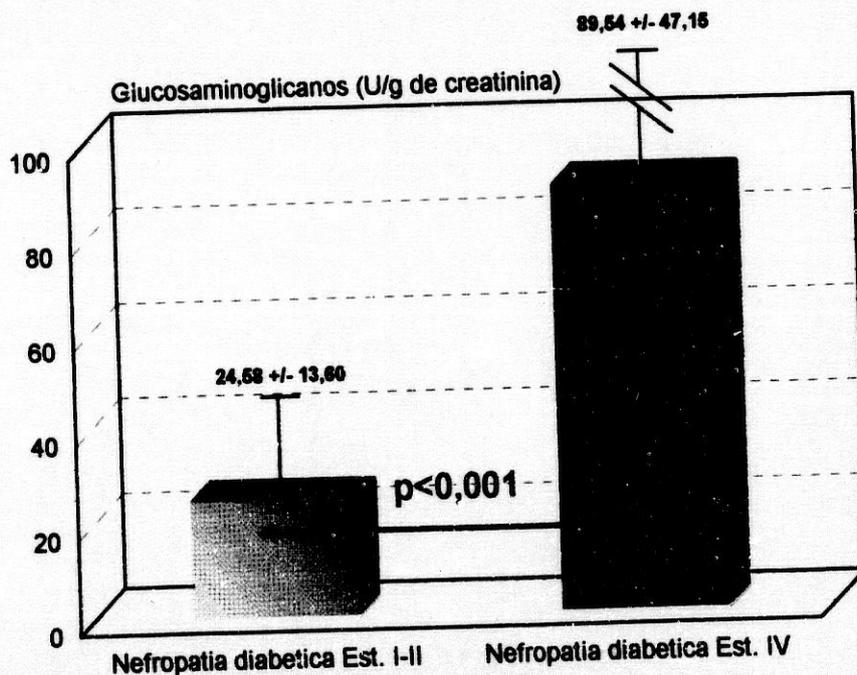
M- Media.

DE- Desviación Estándar.

EEM- Error Estándar de la Media.

F- F Experimental.

P- Nivel de Significación.



**FIGURA 30: Glucosaminoglicanos: comparacion entre pacientes con nefropatia diabetica estadio I-II y estadio IV**

### TABLA XLVIII

#### COMPARACION DE LOS GLUCOSAMINOGLICANOS\* ENTRE PACIENTES CON NEFROPATIA DIABETICA ESTADIO III Y ESTADIO IV

<b>NEFROPATIA DIABETICA</b>		
	<b>ESTADIO III</b>	<b>ESTADIO IV</b>
<b>N°</b>	43	32
<b>M</b>	50,10	89,54
<b>DE</b>	23,55	47,15
<b>EEM</b>	3,59	8,33
<b>F</b>		6,792
<b>P</b>		< 0,01

\*Expresado en U/g de creatinina

N°- N° de casos.

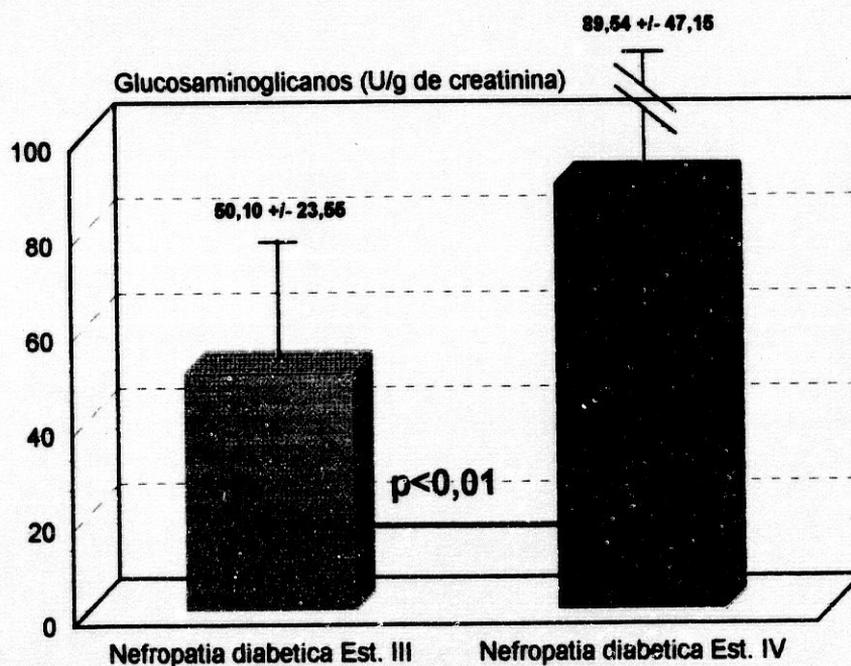
M- Media.

DE- Desviación Estándar.

EEM- Error Estándar de la Media.

F- F Experimental.

P- Nivel de Significación.



**FIGURA 31:** *Glucosaminoglicanos: comparacion entre pacientes con nefropatia diabetica estadio III y estadio IV*

**TABLA II****BETAGLUCURONIDASA : CORRELACION CON LAS  
DIFERENTES VARIABLES EN CONTROLES SANOS**

<b>EDAD</b>	<b>64</b>	<b>0,2763</b>	<b>NS</b>
<b>EDAD SEXUAL</b>	<b>64</b>	<b>0,1516</b>	<b>NS</b>
<b>ACTIVO FISICO SEXUAL</b>	<b>64</b>	<b>0,1929</b>	<b>NS</b>
<b>CREATININA SEXUAL</b>	<b>64</b>	<b>0,0655</b>	<b>NS</b>
<b>CREATININA URINARIA</b>	<b>64</b>	<b>0,2002</b>	<b>NS</b>
<b>ACEROSAMIENTO DE CREATININA</b>	<b>64</b>	<b>0,0895</b>	<b>NS</b>
<b>ALBUMINURIA</b>	<b>64</b>	<b>0,0952</b>	<b>NS</b>
<b>EMAZ</b>	<b>64</b>	<b>0,1039</b>	<b>NS</b>

NS- no significativo.

**TABLA I****BETAGLUCURONIDASA : CORRELACION CON LAS  
DIFERENTES VARIABLES EN LOS PACIENTES CON  
NEFROPATIA DIABETICA ESTADIO I-II**

EDAD	55	0,2679	NS
TIPO DE DIABETES	55	0,1555	NS
TIPO DE NEFROPATIA	55	0,0130	NS
TIPO DE NEFROSIS	55	0,2287	NS
TIPO DE NEFROSI	55	0,1949	NS
TIPO DE NEFROSIS	55	0,0581	NS
TIPO DE NEFROSIS	55	0,1558	NS
TIPO DE NEFROSIS	55	0,0333	NS

NS- no significativo.

**TABLA LI**

**BETAGLUCURONIDASA : CORRELACION CON LAS  
DIFERENTES VARIABLES EN LOS PACIENTES CON  
NEFROPATIA DIABETICA ESTADIO III**

	43	0,1774	NS
	43	0,0342	NS
	43	0,1014	NS
	43	0,0827	NS
	43	0,4361	
	43	0,3468	NS
	43	0,5329	
	43	0,1448	NS

NS- no significativo.

**TABLA LII**

**BETAGLUCURONIDASA : CORRELACION CON LAS  
DIFERENTES VARIABLES EN LOS PACIENTES CON  
NEFROPATIA DIABETICA ESTADIO IV**

	32	0,0763	NS
	32	0,3742	
	32	0,0714	NS
	32	0,0587	NS
	32	0,3600	
	32	0,3819	
	32	0,6341	
	32	0,0520	NS

NS- no significativo.

**TABLA LIII**

**GLUCOSAMINOGLICANOS : CORRELACION CON LAS  
DIFERENTES VARIABLES EN CONTROLES SANOS**

AGE	64	0,0421	NS
SEX	64	0,1598	NS
HEIGHT	64	0,0265	NS
WEIGHT	64	0,0933	NS
BLOOD PRESSURE	64	0,0337	NS
HAEMOGLOBIN	64	0,0575	NS
HAEMATOCRIT	64	0,0659	NS
HAEMOGLOBIN A1C	64	0,0598	NS

NS- no significativo.

**TABLA LIV****GLUCOSAMINOGLICANOS : CORRELACION CON LAS  
DIFERENTES VARIABLES EN LOS PACIENTES CON  
NEFROPATIA DIABETICA ESTADIO I-II**

	55	0,1168	NS
	55	0,0789	NS
	55	0,1930	NS
	55	0,2217	NS
	55	0,0902	NS
	55	0,1199	NS
	55	0,2995	NS
	55	0,1356	NS

NS- no significativo.

**TABLA LV**

**GLUCOSAMINOGLICANOS : CORRELACION CON LAS  
DIFERENTES VARIABLES EN LOS PACIENTES CON  
NEFROPATIA DIABETICA ESTADIO III**

	43	0,1333	NS
	43	0,1305	NS
	43	0,0964	NS
	43	0,1622	NS
	43	0,3163	
	43	0,4624	
	43	0,4804	
	43	0,0328	NS

NS- no significativo.

**TABLA LVI**

**GLUCOSAMINOGLICANOS : CORRELACION CON LAS  
DIFERENTES VARIABLES EN LOS PACIENTES CON  
NEFROPATIA DIABETICA ESTADIO IV**

EDAD	32	0,0942	NS
UREA SÉRICA	32	0,0813	NS
ACTIVIDAD SÉRICA	32	0,3942	< 0,05
CREATININA SÉRICA	32	0,2037	NS
CREATININA URINARIA	32	0,3862	< 0,05
ACTIVIDAD DE LA CREATININA	32	0,3942	< 0,05
ALBUMINURIA	32	0,3614	< 0,05
EMAZ	32	0,0217	NS

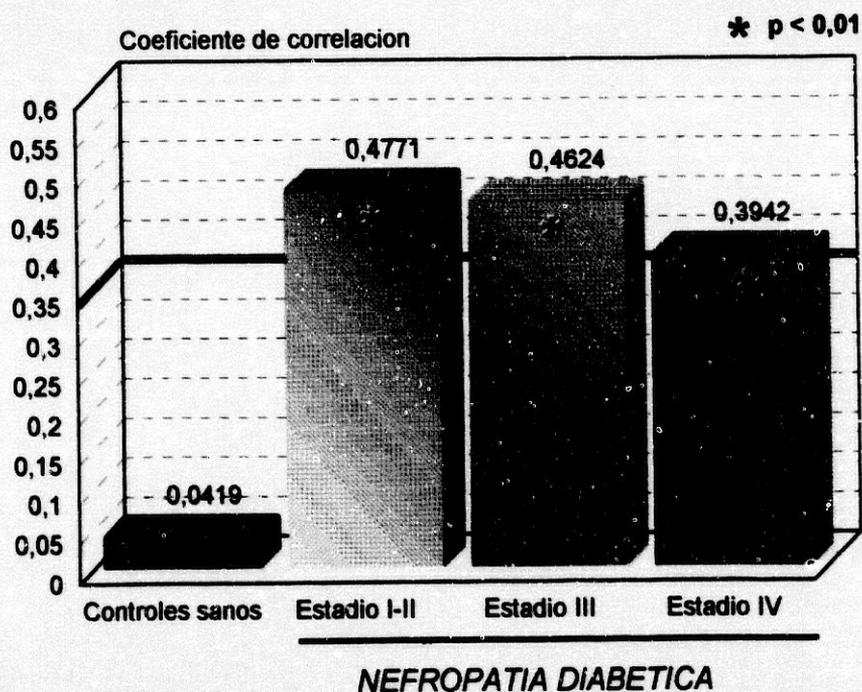
NS- no significativo.

## TABLA LVII

### CORRELACION ENTRE LA BETA-GLUCURONIDASA Y GLUCOSAMINOGLICANOS

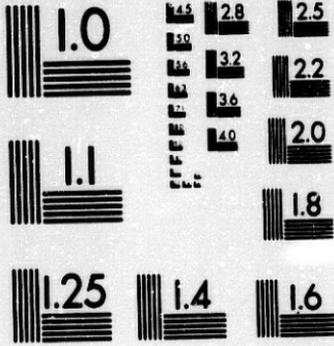
	N° CASOS	COEFICIENTE DE CORRELACION	SIGNIFICACION
<b>CONTROLES SANOS</b>	<b>64</b>	<b>0,0419</b>	<b>NS</b>
<b>NEFROPATIA DIABETICA</b>			
<b>ESTADIO I-II</b>	<b>55</b>	<b>0,4771</b>	<b>&lt; 0,01</b>
<b>ESTADIO III</b>	<b>43</b>	<b>0,4624</b>	<b>&lt; 0,01</b>
<b>ESTADIO IV</b>	<b>32</b>	<b>0,3942</b>	<b>&lt; 0,01</b>

NS: no significativo.



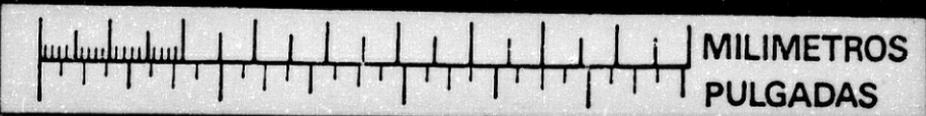
**FIGURA 32: Correlacion entre beta-glucuronidasa y  
glucosaminoglicanos**

# ETD



MICROCOPY RESOLUTION TEST CHART  
NATIONAL BUREAU OF STANDARDS  
STANDARD REFERENCE MATERIAL 1010a  
(ANSI and ISO TEST CHART No. 2)

# 1:24

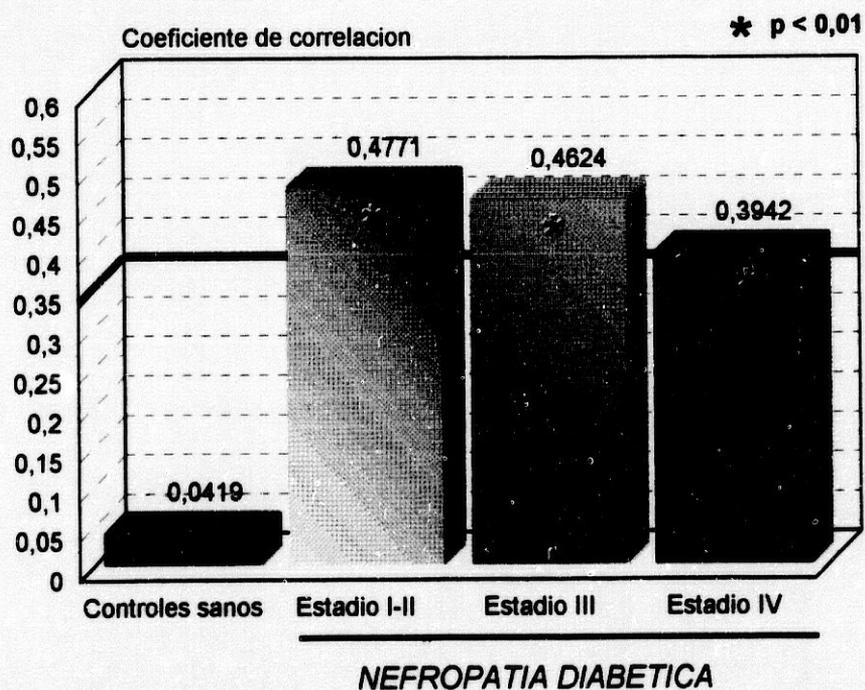


## TABLA LVII

### **CORRELACION ENTRE LA BETA-GLUCURONIDASA Y GLUCOSAMINOGLICANOS**

	<b>Nº CASOS</b>	<b>COEFICIENTE DE CORRELACION</b>	<b>SIGNIFICACION</b>
<b>CONTROLES SANOS</b>	<b>64</b>	<b>0,0419</b>	<b>NS</b>
<b>NEFROPATIA DIABETICA</b>			
<b>ESTADIO I-II</b>	<b>55</b>	<b>0,4771</b>	<b>&lt; 0,01</b>
<b>ESTADIO III</b>	<b>43</b>	<b>0,4624</b>	<b>&lt; 0,01</b>
<b>ESTADIO IV</b>	<b>32</b>	<b>0,3942</b>	<b>&lt; 0,01</b>

NS: no significativo.



**FIGURA 32: Correlacion entre beta-glucuronidasa y  
glucosaminoglicanos**

# **DISCUSSION**

La nefropatía es una complicación a tener en cuenta en la diabetes mellitus, tanto por su frecuencia como sus consecuencias clínicas. Su patogenia es plurifactorial al igual que ocurre con el resto de las complicaciones de la diabetes. La mayor predisposición a padecer microangiopatía está en relación con la duración de la enfermedad. Por este motivo su mayor incidencia ocurre en pacientes con diabetes mellitus tipo I. También se ha relacionado con el mal control metabólico, con anomalías de la microcirculación o la hemostasia y con la susceptibilidad genética<sup>1,2,3,4</sup>.

En los estadios iniciales de la enfermedad renal, se detectan alteraciones funcionales y estructurales sin repercusión clínica. Posteriormente hay un periodo de transición en el que se desarrollan lesiones glomerulares pudiendo aparecer microalbuminuria de forma ocasional que después conforme avanza el cuadro se hace permanente y se acompaña de hipertensión arterial. En la fase más tardía de la nefropatía se produce una oclusión glomerular y aparece proteinuria persistente con hipertensión grave que conduce a la insuficiencia renal crónica terminal<sup>5</sup>.

Se ha demostrado que conforme avanza el proceso microangiopático en la diabetes mellitus ocurre un hecho fundamental a nivel vascular que es el aumento de la permeabilidad, inducido por el incremento de los productos terminales de la glicosilación avanzada, sobre todo del 2-furoil 4 (5)-(2) furanil 1-nimidazol durante un proceso complejo que conduce finalmente a la citotoxicidad de algunos tipos celulares concretos<sup>6</sup>. Este proceso está inhibido por el glutatión y depende de la actividad de los enzimas del citocromo P-450.

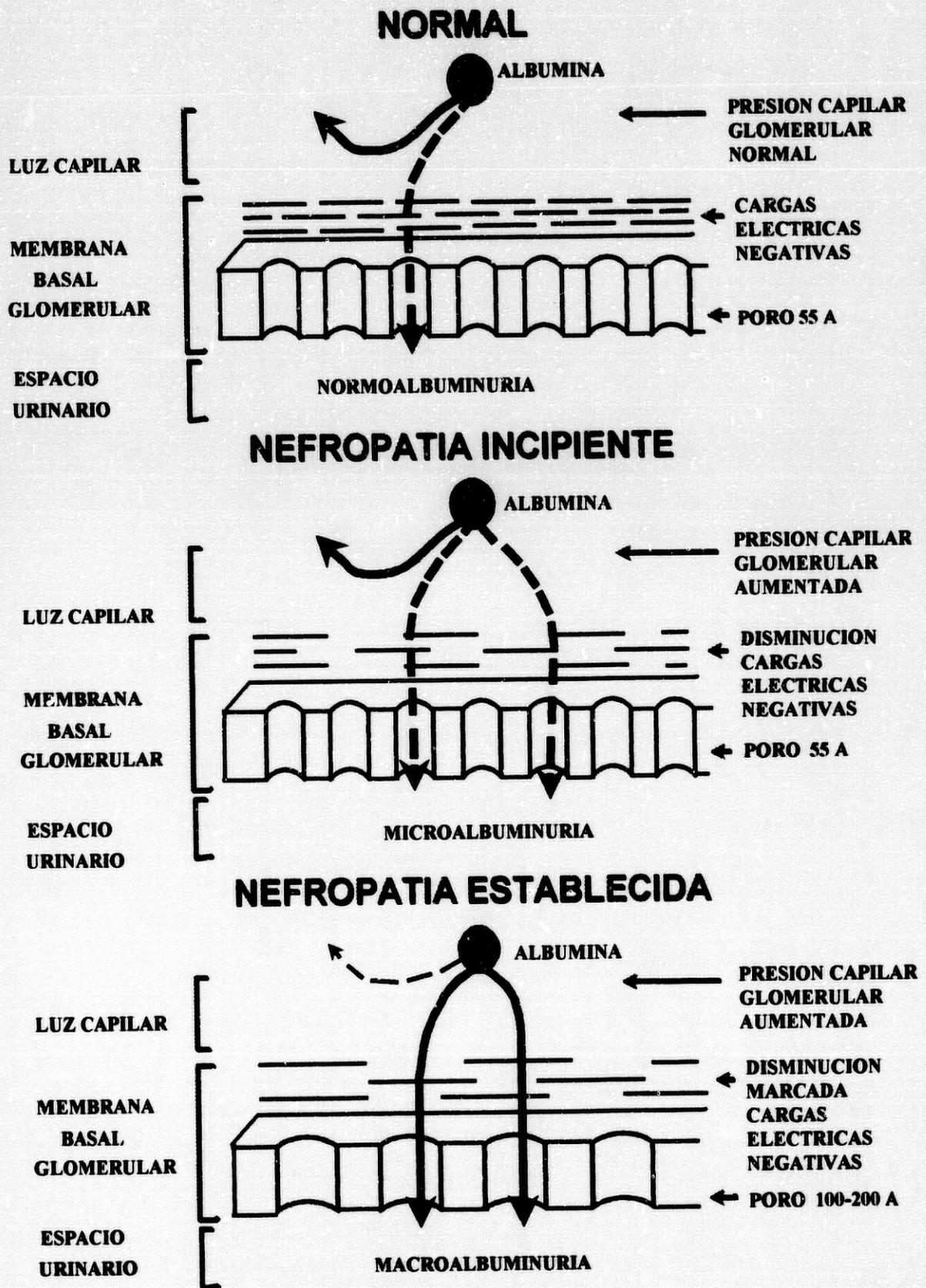
La permeabilidad vascular no depende únicamente de la integridad celular, sino también de las barreras con carga iónica. La membrana basal contiene moléculas de proteínoglicanos que están constituidas por cargas negativas<sup>7</sup>. Los proteínoglicanos aniónicos disminuyen considerablemente en la diabetes<sup>8</sup>, lo que permite la salida de proteínas con carga negativa como la albúmina, hacia el espacio extravascular atravesando la membrana basal. Así sucede en la orina donde se observa la correspondiente albuminuria<sup>9</sup>. La glicosilación no enzimática reduce la unión de los proteínoglicanos aniónicos a las proteínas en el colágeno y la membrana basal.

El aumento de la síntesis de los productos terminales de la glicosilación avanzada con enlaces cruzados dentro de las membranas basales, reduce la elasticidad vascular y causa un atrapamiento de las proteínas plasmáticas extravasculares en la pared vascular. Además se acumulan estos productos terminales de la glicosilación por acción ineficaz de las proteasas, favoreciendo el engrosamiento de la membrana basal capilar y la arteriosclerosis.

La acumulación de proteínas plasmáticas atrapadas contribuye, con el paso de los años, al engrosamiento de la membrana basal glomerular y a la oclusión progresiva de la microcirculación<sup>10,11</sup>.

La unión de la IgG y de la albúmina a la membrana es un hecho característico de la membrana extravascular diabética y su presencia contribuye al daño tisular añadido por mecanismos inmunológicos<sup>12</sup>.

A medida que envejecen el colágeno y la membrana basal son degradados y sustituidos a una velocidad constante y gradual. Este proceso de recambio, depende de la función de los macrófagos y su eficacia determina la velocidad a la que se desarrolla el daño celular<sup>13</sup>. Todas estas alteraciones se producen a lo largo del tiempo, en los pacientes diabéticos y son factores que condicionan el desarrollo de la microangiopatía.



**FIGURA 33 : Evolucion en los cambios de la MBG en la nefropatia diabetica**

La estructura que hay entre el capilar glomerular y el espacio urinario de la cápsula de Bowman se comporta como una barrera mecánica y eléctrica. Esta barrera tiene unos poros de unos 55 Å y está cargada negativamente. La carga negativa se mantiene gracias a los glucosaminoglicanos. Por ello las proteínas cargadas negativamente (como la albúmina) o de mayor tamaño al citado, no podrán pasar esta barrera fisiológica. El otro factor que también influye es la presión en el capilar glomerular, de forma que, si esta se elevada facilita el paso de sustancias al espacio urinario.

En la nefropatía diabética, parece que el primer cambio sería un aumento de la presión glomerular seguidos de una pérdida de las cargas negativas de la membrana basal, por pérdida de polianiones glomerulares o por aumento de los cationes. En estos dos mecanismos intervienen de forma activa los enzimas lisosómicos N-acetil- $\beta$ -glucosaminidasa y  $\beta$ -glucuronidasa, encargados de la degradación de las macromoléculas componentes de la membrana basal glomerular como son los glucoconjugados y los glucosaminoglicanos.

Estas alteraciones son las que permiten la aparición de la microalbuminuria. En fases posteriores de la enfermedad renal, se produce un aumento del tamaño de los poros, que junto a los cambios de la membrana antes citados, desencadena la aparición de albuminuria no selectiva (figura 33).

Los cambios estructurales y funcionales acaecidos en el riñón en el transcurso de la nefropatía diabética, van a dar origen a una serie de alteraciones analíticas, tanto séricas como urinarias, que nos van a indicar el grado de afectación renal que existe en cada momento.

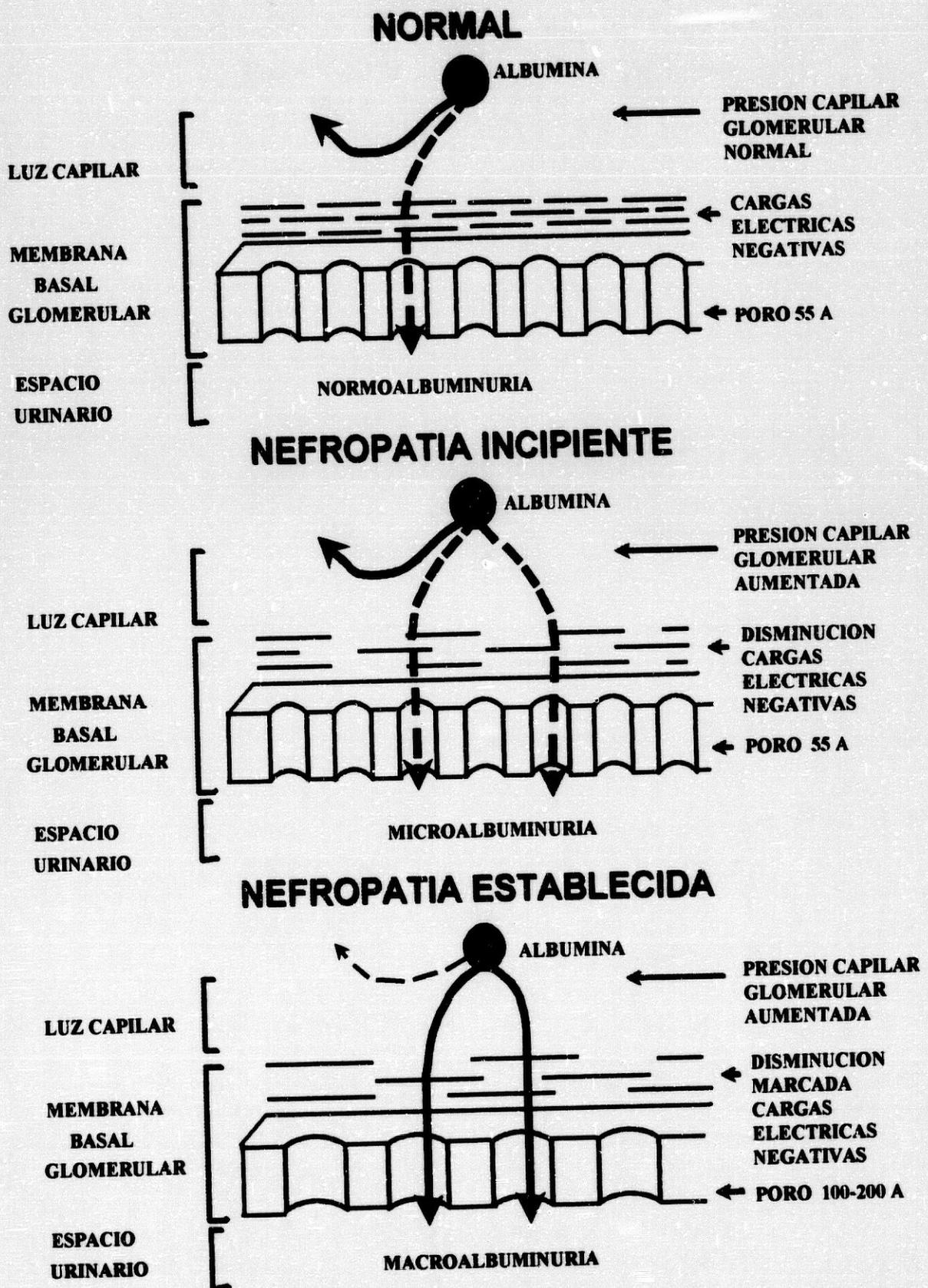
Lo ideal sería encontrar lo más precozmente posible un parámetro bioquímico que nos haga sospechar la existencia de nefropatía, mucho antes de que empiecen las manifestaciones clínicas de la enfermedad, ya que al ser un proceso irreversible el conocimiento y la puesta en marcha de algunas medidas terapéuticas retrasaría la rápida evolución del cuadro.

Las alteraciones analíticas que reflejan el grado de afectación renal las denominamos "marcadores de daño renal". Son múltiples los que se utilizan, desde parámetros bioquímicos (hiperuricemia, aclaramiento de creatinina) a marcadores de disfunción endotelial (factores de crecimiento celulares y endoteliales), aunque los más frecuentes en clínica por su fácil realización y su fiabilidad, son los que estudian la excreción anormal de proteínas por la orina<sup>14</sup>.

La microalbuminuria es actualmente uno de los marcadores de lesión renal más sensibles y específicos. Para medir la capacidad de reabsorción tubular se utilizan proteínas de bajo peso molecular, como la  $\beta$ -2 microglobulina o los enzimas de secreción tubular como la alanino-aminopeptidasa o el N-acetil- $\beta$ -glucosaminidasa.

El ácido úrico sérico es un marcador que indica afectación renal, cuando la nefropatía presenta signos clínicos ya evidentes como la hipertensión arterial<sup>15</sup>. Hay mayor prevalencia de hiperuricemia en los pacientes diabéticos tipo II<sup>16</sup>, y se ha relacionado con la obesidad, hipercolesterolemia y resistencia a la insulina<sup>17</sup>.

Desde los trabajos de PARVING<sup>18</sup> y VIBERTI<sup>19</sup> se conoce la importancia de la detección de microalbuminuria, para etiquetar el grado de nefropatía diabética. Hoy es un parámetro bioquímico mundialmente aceptado.



**FIGURA 33 :** Evolucion en los cambios de la MBG en la nefropatia diabetica

La presencia de microalbuminuria aumenta veinte veces el riesgo de insuficiencia renal crónica terminal<sup>20</sup>.

De los enzimas urinarios que pueden tener valor pronóstico en la nefropatía diabética se encuentran el N-acetil- $\beta$ -glucosaminidasa<sup>21</sup> y la  $\beta$ -glucuronidasa<sup>22</sup>. Estos dos enzimas están implicados en el desarrollo de la microangiopatía diabética, al intervenir, como hemos señalado anteriormente, en la degradación de los glucoconjugados (glucosaminoglicanos) de la membrana basal glomerular<sup>23</sup>.

Como ha demostrado VIDAL y cols<sup>24</sup> el primer mecanismo que se altera en la nefropatía diabética, es la selectividad de carga de la membrana basal, mucho antes que el aumento de la presión intraglomerular<sup>25</sup>, y del aumento del tamaño del poro<sup>26</sup>. La pérdida neta de cargas negativas a nivel de la membrana basal, que al parecer viene predeterminada de forma genética<sup>27</sup>, se debe a un defecto parcial en la sulfatación de proteínoglicanos, aunque también puede intervenir el aumento de la glicación proteica del colágeno de la membrana.

El metabolismo de los proteínoglicanos es complicado, interviniendo un complejo sistema enzimático, aunque los pasos claves en la degradación son la hidrólisis del núcleo proteico y la división del polisacárido por endoglicosidasas:  $\beta$ -glucuronidasa, N-acetil- $\beta$ -glucosaminidasa y hialuronoglucosaminidasa (figura 6).

Los fragmentos formados difunden hacia la matriz y son excretados casi sin unir por la orina, o bien son fagocitados por células, rompiéndose en este caso en el interior de las vesículas lisosomiales. Por este motivo hemos encontrado aumento de la excreción urinaria de glucosaminoglicanos en la fases iniciales de la enfermedad renal en el paciente diabético<sup>28</sup>, que se acompaña de un incremento de la actividad urinaria de los enzimas lisosómicos encargados de su degradación como son el N-acetil- $\beta$ -glucosaminidasa<sup>29</sup> y la  $\beta$ -glucuronidasa<sup>30</sup>.

WATERS<sup>31</sup> estudia siete enzimas que dice son máximos responsables del metabolismo glucoconjugado y que juegan un papel importante en la patogenia de la macro y microangiopatía diabética. Entre estos enzimas se encuentra el NAG y la  $\beta$ -glucuronidasa. En relación con el primero existe algún otro trabajo, en el que se determina su actividad plasmática, en la diabetes mellitus tipo I, observándose elevaciones en pacientes con complicaciones<sup>32</sup>. Algunos autores auguran, que el NAG está implicado en el desarrollo de la microangiopatía de algunos diabéticos, favoreciendo el depósito de mucopolisacáridos en los pequeños vasos.

En relación con las determinaciones del NAG urinario, los estudios son mas escasos. Se ha comprobado que su excreción desciende ligeramente durante el día y que puede modificarse por ciertos fármacos<sup>33</sup>. Hay elevación de la excreción urinaria de NAG en los pacientes diabéticos, en relación con su grado de nefropatía, sin que exista correlación con otros enzimas, salvo con la  $\beta$ -glucuronidasa.

De acuerdo con los trabajos existentes podemos resumir, que el incremento de la actividad urinaria del NAG en la diabetes mellitus (fundamentalmente la tipo I), podría estar en relación con el grado de nefropatía diabética<sup>34,35</sup>.

Hace mas de una década YUNG<sup>36</sup> ya advirtió de la importancia de la determinación urinaria de NAG en el diagnóstico precoz de la enfermedad renal en los pacientes diabéticos. Cuando existe albuminuria franca, la actividad del NAG esta muy elevada<sup>37,38</sup>. La correlación entre la microalbuminuria y la actividad del NAG ha sido evidenciada en pacientes diabéticos con hipertensión arterial<sup>39,40</sup>. Al intervenir el NAG en

la degradación de glucoconjugados de la MBG, la hiperactividad de este enzima en las fases precoces de la nefropatía, podría deberse a un aumento de su producción a nivel glomerular<sup>41,42</sup>. Al mejorar la función glomerular por acción de determinados fármacos, como el grupo de los inhibidores del enzima convertidor de la angiotensina, disminuye la excreción urinaria de NAG, además de descender la eliminación de microalbuminuria<sup>43,44</sup>.

Son escasos los trabajos que estudian la actividad urinaria de la  $\beta$ -glucuronidasa en la diabetes mellitus. El estudio inicial de MARUHN<sup>45</sup> relaciona el aumento de este enzima con la aparición de complicaciones de la diabetes. Cuando hay hipertensión arterial, hecho que demuestra la existencia de una nefropatía establecida, es cuando encuentra elevados los niveles urinarios de  $\beta$ -glucuronidasa.

En relación con el tiempo de evolución de la diabetes, se ha visto que los 10-15 años después del inicio de la enfermedad, es cuando empiezan a aparecer signos de afectación renal. RAO<sup>46</sup> ha encontrado niveles elevados de  $\beta$ -glucuronidasa en esas fechas y siempre había otros parámetros de función renal alterados.

También se ha querido relacionar la actividad urinaria de la  $\beta$ -glucuronidasa con el mal control de la diabetes. Cuando existen alteraciones metabólicas graves, esta hiperactividad es muy manifiesta<sup>47</sup> e incluso en situaciones clínicamente estables, pero con hemoglobina glicosilada algo elevada<sup>48</sup>.

En la nefropatía diabética se ha demostrado un descenso de la concentración glomerular de GAG, con aumento de su excreción urinaria en relación con la hiperactividad de los enzimas encargados de su degradación, que son los dos que anteriormente hemos señalado.

En el presente trabajo queremos reflejar la importancia de los cambios estructurales renales producidos en el paciente diabético. Su detección, lo más precozmente posible, se puede realizar determinando en orina algunos de los componentes de la MBG, o una consecuencia de ellos, la eliminación aumentada de algunas sustancias encargadas de su metabolismo.

No hemos encontrado en la literatura ningún trabajo que relacione la excreción urinaria de GAG y la actividad en la orina de la  $\beta$ -glucuronidasa.

Nuestro estudio lo constituye un amplio grupo de pacientes diabéticos, 130 en total, que hemos distribuido según el grado de nefropatía (Estadio I-II 55pacientes, Estadio III 43 pacientes y Estadio IV 32 pacientes) y un grupo de 64 sujetos sanos tomados como control.

En cada uno de estos, hemos estudiado una serie de parámetros bioquímicos clásicos de función renal, cuyos resultados vamos a comentar.

La urea sérica se eleva en las fases finales de la nefropatía diabética, cuando la insuficiencia renal esta ya establecida (figura 9) y las diferencias fueron significativas respecto al grupo control en el Estadio IV o entre los grupos de enfermos en Estadio I-II con IV y Estadio III con IV (tabla XX). Este hecho nos pone en evidencia que la determinación de urea sérica no tiene valor en la diagnóstico precoz de la nefropatía diabética y que solamente se altera cuando hay signos de insuficiencia renal.

El ácido úrico sérico se va elevando progresivamente, conforme aumenta el grado de afectación renal aunque solo alcanza niveles considerados como patológicos, en el Estadio IV de la nefropatía diabética (326,95 mmol/l) (figura 10). Comparando los diferentes grupos entre si, existieron diferencias significativas entre el grupo control y el

Estadio IV de nefropatía y entre los Estadios I-II con IV y Estadio III con IV, como exponemos en la tabla XXII.

La elevación del ácido úrico, es considerada inicialmente como un marcador de daño epitelial<sup>49</sup> y de hipoperfusión renal<sup>50,51</sup> con especial repercusión sobre el túbulo, responsable inicial de la reducción en la excreción de ácido úrico y su consecuente incremento sanguíneo. Su valor en la diabetes radica mas en sus cambios evolutivos, que podrían detectar una alteración de la función tubular por hipoperfusión.

El comportamiento de la creatinina sérica es algo diferente. Solamente se encuentra elevada de forma significativa respecto al resto de los grupos, en los pacientes diabéticos con nefropatía en Estadio IV (figura 11). Esto nos indica por un lado la conservación de la función glomerular, en límites muy aceptables en los Estadios I, II y III de la nefropatía diabética. Por otra parte en la nefropatía establecida con albuminuria evidente (Estadio IV) se pone de manifiesto el deterioro de la función del glomerulo.

Igual que con los parámetros anteriormente estudiados, se establecen diferencias significativas al comparar el grupo control con el Estadio IV de la nefropatía y entre los Estadios I-II con IV y Estadios III con IV (tabla XXIV).

La creatinina urinaria aumenta en los pacientes diabéticos en Estadio I-II con respecto a los controles sanos, así como con el resto de los grupos de pacientes (figura 12). Es un marcador grosero que nos indica el aumento de la presión en el capilar glomerular, con el incremento de la filtración glomerular que puede estar influenciado por la glucemia<sup>52</sup> o las hormonas relacionadas con su metabolismo (insulina, glucagón u hormona del crecimiento)<sup>53</sup> en las primeras fases de la nefropatía diabética.

El aclaramiento de creatinina es un parámetro más fidedigno de filtración glomerular. Por este motivo es obvio encontrar un decreciente descenso del aclaramiento de creatinina conforme avanza el grado de afectación renal en el paciente diabético (figura 13). Se encontraron diferencias significativas entre los controles sanos y los diabéticos con nefropatía en estadio III y IV y además entre los Estadios I-II y IV y entre los Estadios III y IV (tabla XXVIII). Al igual que la creatinina sérica, nos puede ser útil para el diagnóstico de nefropatía avanzada.

Un dato esperado por nosotros, es el aumento progresivo de la excreción urinaria de albúmina en relación con el grado de afectación renal en el diabético.

En los controles sanos la media de excreción de albúmina estaba dentro de los límites de la normalidad. En la nefropatía diabética Estadio I-II la excreción media de albúmina la excreción media de albúmina también se encontraba dentro de la normalidad, aunque existió un pequeño numero de casos que su albuminuria estaba dentro del concepto que hemos establecido como microalbuminuria, es decir entre 30 y 300 mg/g de creatinina.

En Estadio III de la nefropatía diabética casi todos los enfermos presentaban microalbuminuria y coincide, como parámetro de inclusión de este Estadio de la clasificación de Mogensen<sup>54</sup>.

En el Estadio IV los pacientes presentaban en un porcentaje muy alto de ellos macroalbuminuria, es decir mas de 300 mg/g de creatinina (figura 14).

Al comparar el grupo control con el resto de los pacientes diabéticos, existieron diferencias significativas con el Estadio III de la nefropatía ( $p < 0,005$ ) y con Estadio IV ( $< 0,001$ ).

Comparando grupo por grupo en los diabéticos se observó que existían diferencias significativas entre cada uno de ellos (Tabla XXX).

La ausencia de elevación importante de albúmina urinaria en el Estadio I-II, podría explicarse en primer lugar por la ausencia de lesión renal glomerular evidente en este estadio, y si la hubiere sería mínima y se compensaría a nivel tubular reabsorbiéndose el exceso de proteína filtrada<sup>55</sup>.

Desde hace años se ha establecido que la microalbuminuria es la primera manifestación clínica de la nefropatía diabética, que inicialmente puede ser ocasional, pero que posteriormente se hace constante<sup>56</sup> y que tiene un importante valor pronóstico de la evolución de esta complicación de la diabetes<sup>57,58</sup>. Como hemos señalado anteriormente la presencia de microalbuminuria es consecuencia de un aumento del tamaño de los poros de la membrana basal glomerular así como una desestructuración de la carga eléctrica a dicho nivel.

Cuando la proteinuria sigue aumentando y supera los 300 mg/ g de creatinina el deterioro de la función renal se hace evidente y ya están alterados otros parámetros como el aclaramiento de creatinina, ácido úrico o urea séricos.

Otro punto de interés es la influencia que tiene el control de la glucemia en la aparición de las complicaciones de la diabetes, entre ellas la nefropatía. Los estudios del grupo de trabajo DCCT indican la importancia de la relación - control metabólico-nefropatía diabética -<sup>59,60</sup>. En nuestros enfermos estudiamos el grado de control de la diabetes, mediante la determinación de la hemoglobina glicosilada. No encontramos diferencias significativas de esta entre los pacientes diabéticos en sus distintos Estadios de la nefropatía, pero sí con los controles sanos (tabla XXXII). Esto nos hace pensar que de forma puntual el control glucémico no influye en el grado de nefropatía.

Pero el motivo fundamental de nuestro estudio ha sido el comportamiento del enzima lisosómico  $\beta$ -glucuronidasa en orina en los pacientes diabéticos y su relación con los glucosaminoglicanos excretados.

Como podemos observar en la tabla XXXIII se produce un aumento progresivo de la actividad urinaria de la  $\beta$ -glucuronidasa conforme aumenta el grado de afectación renal en los pacientes diabéticos.

De forma global existen diferencias estadísticamente significativas en la  $\beta$ -glucuronidasa urinaria entre los controles sanos y los pacientes diabéticos ( $p < 0,01$ ) como se representa en la figura 17.

De forma pormenorizada en cada grupo se puede observar que existieron diferencias significativas entre los controles sanos y los diabéticos con nefropatía Estadio I-II ( $p < 0,5$ ), Estadio III ( $p < 0,01$ ) y Estadio IV ( $p < 0,001$ ) como se expone en las figuras 18 a 20.

Entre los grupos de pacientes diabéticos también existieron diferencias. Entre los Estadios I-II y III ( $p < 0,01$ ), Estadio I-II y IV ( $p < 0,002$ ) y Estadio III y IV ( $p < 0,01$ ) que se pueden observar en las figuras 21 a 23.

A la vista de estos resultados podemos afirmar que en la nefropatía diabética se produce un incremento en la actividad de la  $\beta$ -glucuronidasa y que esta se hace mayor conforme aumenta el grado de la nefropatía. En las fases incipientes de la enfermedad, y es un hecho de gran trascendencia de cara al diagnóstico precoz, se produce un incremento de este enzima responsable del metabolismo de macromoléculas complejas a

nivel de la membrana endotelial<sup>61</sup>, pero además la  $\beta$ -glucuronidasa también juega un importante papel en la patogenia de otras complicaciones vasculares de la diabetes<sup>62</sup>.

El aumento de la excreción urinaria de  $\beta$ -glucuronidasa en las fases avanzadas de la nefropatía diabética, puede ser un indicador de daño tubular, pero en las fases incipientes de la enfermedad renal, es el resultado de un incremento de su actividad a nivel glomerular siendo el responsable del deterioro de la membrana basal glomerular<sup>63</sup>. No es solo este enzima el que se altera ya que MARHUM<sup>63</sup> encontró elevaciones del N-acetil- $\beta$ -glucosaminidasa,  $\alpha$ -glucosidasa y trehalasa.

Como consecuencia del aumento de la actividad estos enzimas lisosómicos, es obvio pensar que aceleran el metabolismo de los componentes de la MBG y entre ellos de los glucosaminoglicanos.

Como exponemos en la figura 24 se observa un incremento de la **excreción urinaria de glucosaminoglicanos** en relación con el Estadio en que se encuentra la nefropatía diabética. Globalmente en comparación a los controles sanos existen diferencias significativas ( $p < 0,001$ ) en el comportamiento de los GAG urinarios en los pacientes diabéticos (figura 25). De forma pormenorizada y siempre comparando con los controles sanos las diferencias con las nefropatías Estadio I-II, Estadio III y Estadio IV son muy evidentes ( $p < 0,001$ ), como se puede apreciar en las figuras 26 a 28.

Si comparamos los grupos de diabéticos entre sí, también existen diferencias significativas entre la nefropatía Estadio I-II y III ( $p < 0,01$ ), Estadio I-II y IV ( $p < 0,001$ ), y Estadio III y IV ( $0,01$ ), como observamos en las figuras 29 a 31.

Estos resultados son los que cabían esperar, ya que tras una hiperactivación de los enzimas metabólicos de los glucosaminoglicanos, estos descienden a nivel de la MBG y se excretan por la orina.

Pero quizás el hallazgo más importante del presente trabajo radique en la existencia de una diferencia significativa en la excreción urinaria de GAG entre los controles sanos y los diabéticos en Estadio I-II de su nefropatía. Ya en las fases iniciales de la enfermedad se puede encontrar el catabolismo anormal de GAG en la MBG hecho que solamente había sido estudiado de forma experimental<sup>64</sup>.

Como hemos dicho reiteradamente, el ideal sería detectar la presencia de nefropatía diabética lo más precozmente posible antes de que aparezcan síntomas o se haga evidente la microalbuminuria. Si los GAG ascienden en fases iniciales de la enfermedad nos ponen en alerta sobre la evolución del cuadro renal para que empecemos a tomar las medidas terapéuticas especiales, fundamentalmente el inicio del tratamiento con inhibidores del enzima convertidor de la angiotensina, que ha demostrado que retrasan el progreso de la nefropatía.

La segunda parte de nuestro estudio consistió en relacionar los resultados obtenidos de la  $\beta$ -glucuronidasa y GAG urinarios, con el resto de los parámetros en los diferentes grupos tanto en controles sanos como en diabéticos según su estadio de nefropatía.

Comenzando con la  $\beta$ -glucuronidasa urinaria en los controles sanos no se observó correlación con ninguno de los demás datos recogidos de la historia clínica como edad, urea sérica, ácido úrico sérico, creatinina sérica y urinaria, aclaramiento de creatinina, albuminuria o hemoglobina glicosilada (tabla II).

De igual forma tampoco existió correlación entre la  $\beta$ -glucuronidasa y el resto de los parámetros estudiados en la nefropatía diabética Estadio I-II (tabla L).

En el Estadio III la  $\beta$ -glucuronidasa se relacionó de forma significativa con la creatinina urinaria y con la albuminuria (tabla LI) y en el Estadio IV, con la urea sérica, creatinina urinaria, aclaramiento de creatinina y albuminuria. (tabla LII).

En relación con los GAG urinarios, no existió correlación con ninguno de los parámetros antes mencionados en los controles sanos (tabla LIII) y en los pacientes con nefropatía en Estadio I-II (tabla LIV), en cambio si existió correlación con la creatinina urinaria, aclaramiento de creatinina y albuminuria en el Estadio III de la nefropatía (tabla LV) y con el ácido úrico sérico, creatinina urinaria, aclaramiento de creatinina y albuminuria en el Estadio IV de la nefropatía diabética (tabla LVI).

Un dato llamativo que queremos hacer resaltar, es que no existió correlación de la  $\beta$ -glucuronidasa y de los GAG urinarios con la hemoglobina glicosilada en ninguno de los grupos de nuestro estudio. Aunque es irrefutable la influencia que tiene el control de la glucemia en la aparición de las complicaciones de la diabetes entre ellas la nefropatía diabética<sup>65</sup>, de forma aislada y en un momento determinado en la evolución de la enfermedad renal el control de la diabetes no va a influir en la actividad de la  $\beta$ -glucuronidasa, ni tampoco en la excreción urinaria de GAG aunque a la larga el mal control de la diabetes favorezca el progreso de la nefropatía<sup>66</sup>.

Estos resultados se pueden interpretar de diferentes formas. En primer lugar queremos resaltar que el comportamiento de la  $\beta$ -glucuronidasa y GAG urinarios en relación a sus correlaciones con el resto de los datos, que son fundamentalmente parámetros bioquímicos de función renal, es muy similar, hecho que avala nuestra hipótesis de que a nivel glomerular en la diabetes mellitus se produce una activación de los enzimas encargados de la degradación de los GAG, con el posterior aumento en la excreción urinaria de estos<sup>28</sup>.

Por otra parte observamos que en los pacientes con nefropatía Estadio I-II, aunque está alterada la excreción de  $\beta$ -glucuronidasa y GAG urinarios, todavía no existe correlación con los datos bioquímicos clásicos de función renal. Esto nos hace suponer que son cambios muy precoces que aún no han repercutido en la función glomerular de los riñones del paciente diabético, pero que existen cambios microangiopáticos evidentes<sup>67</sup>.

La última parte de esta Tesis Doctoral es la correlación entre los dos parámetros motivo de nuestro estudio, la actividad urinaria de la  $\beta$ -glucuronidasa y la excreción por la orina de glucosaminoglicanos. A excepción de en los controles sanos en los tres grupos de pacientes diabéticos existió una correlación estadísticamente significativa entre  $\beta$ -glucuronidasa y GAG (tabla LVII).

A la vista de esto podemos decir que hay un paralelismo entre uno de los componentes fundamentales de la MBG, los GAG, y uno de los enzimas lisosómicos encargados de su degradación, la  $\beta$ -glucuronidasa, y que se alteran ambos en la orina en los estadios iniciales de la nefropatía diabética.

A la vista de todos los resultados podemos concluir que la determinación urinaria de  $\beta$ -glucuronidasa y GAG son dos parámetros útiles en el diagnóstico precoz de la nefropatía diabética y que se alteran más precozmente que la albuminuria y que otros datos bioquímicos de función renal como el ácido úrico sérico, la creatinina sérica o el aclaramiento de creatinina.

## BIBLIOGRAFÍA.

1. Pirart J. Diabetes mellitus and its degenerative complications: a prospective study of 4.400 patients observed between 1947 and 1973. *Diabetes Care*. 1978; 1: 168-188.
2. Tchobroytsky G. Relation of diabetic control to development of microvascular complications. *Diabetología*. 1978; 15: 143-152.
3. Skyler, JS. Complications of diabetes mellitus: relationship to metabolic dysfunction. *Diabetes Care*. 1979; 2: 499-509.
4. Jennings PE, Barnett AH. New approaches to the pathogenesis and treatment of diabetic microangiopathy. *Diabetic. Med*. 1988; 5: 111-117.
5. Mogensen CE, Schmitz O. The diabetic kidney from hyperfiltration and microalbuminuria failure. *Med. Clin. North. Am*. 1988; 1465-1492.
6. Brownlee M, Vlassara H, Cerami A. The pathogenetic role of nonenzymatic glycosylation in diabetic complications. In: Crabbe MJC, ed. *Diabetic Complications: Scientific and Clinical Aspects*. Edinburg: Churchill-Livingstone; 1987: 94-139.
7. Van den Born J, Van den Heuvel PWJ, Baker MAH, et al. A monoclonal antibody against GBM heparan sulfate induces an acute selective proteinuria in rats. *Kidney Int*. 1992; 41: 115-123.
8. Pérez Blanco FJ, Moreno Terribas G, Cantero Hinojosa J. Urinary excretion of GAG in patients with early diabetic nephropathy. *Nephron*. 1996; 73: 344 -345.
9. Kefalides NA. Biochemical properties to human glomerular basement membrane in normal and diabetic kidneys. *J. Clin. Invest*. 1974; 53:403-407.
10. Gundersen HJG, Osterby R. Precise quantitation of glomerular basement membrane morphology. *Renal Physiol*. 1980; 3: 303-311.
11. Karttunen T, Risteli J, Autio-Hartmainen H, Risteli L. Effect of age and diabetes on type IV collagen and laminin in human kidney cortex. *Kidney Int*. 1986; 30: 586-591.
12. Lyons TJ. Oxidised low density lipoproteins: a role in the pathogenesis of atherosclerosis in diabetes. *Diabetic. Med*. 1991; 8:411-420.
13. Williamson JR, Tilton RG, Chang K, Kilo C. Basement membrane abnormalities in diabetes mellitus: relationship to clinical microangiopathy. *Diabetes Metab. Rev*. 1988; 4: 339-370.
14. Pérez Blanco FJ, Cabello MJ, Huertas JM. Indicadores bioquímicos precoces de daño renal en la hipertensión arterial. *An. Med. Intern*. 1998; 15: 270-275.
15. Messerli FH, Frohlich DE, Dreslinski DR et al. Serum uric acid in essential hypertension: an indicator of renal vascular involvement. *Ann. Intern. Med*. 1980; 93: 817-821.
16. Dura Trave T, Moya Benavent M, Casero Ariza J. Hipouricemia renal en la diabetes mellitus infanto-juvenil. *An. Esp. Pediatr*. 1996; 44: 425-428.
17. Crook M. Hypouricaemia in a hospital population. *Scand. J. Clin. Lab. Invest*. 1993; 53: 883-885.
18. Parving HH, Oxenboll B, Svendsen PAA et al. Early detection of patients at risk of developing diabetic nephropathy. A longitudinal study of urinary albumin excretion. *Acta Endocrinol*. 1982; 21:725-729.

19. Viberti CC, Wiseman M, Mackintosh D et al. Peut-on prévenir la néphropathie diabétique?. Journées de diabétologie-Hotel Dieu, De Flammarión, Paris. 1983: 78-87.
20. Mogensen CE, Christensen CK. Predicting diabetic nephropathy in insulin-dependent patients. *N. Engl. J. Med.* 1984; 310: 89-93.
21. Waters PJ, Flynn MD, Corral RJM et al. Increases in plasma lysosomal enzymes in Type I (insulin-dependent) diabetes mellitus: relationship to diabetic complications and glycaemic control. *Diabetologia.* 1992; 35: 991-995.
22. Goi G, Fabi A, Lorenzi R, Lombardo A, et al. Serum enzymes of lysosomal origin as indicators of the metabolic control in diabetes: comparison with glycated hemoglobin and albumin. *Acta Diabetol. Lat.* 1986; 23: 117-125.
23. Bienkowski MJ, Conrad HE. Kinetics of proteoglycan sulfate synthesis, secretion, endocytosis, and catabolism by a hepatocyte cell line. *J. Biol. Chem.* 1984; 259: 989-996.
24. Vidal P, Deckert T, Andreassen H, et al. Loss of charge selectivity, non pore size, accompanies microalbuminuria in diabetic nephropathy. *Diabetologia.* 1992; 35 (suppl 1): 144.
25. Mogensen CE. Progression of nephropathy in long-term diabetes with proteinuria and affect of initial antihypertensive treatment. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1976; 36: 383-387.
26. Myers BD, Winetx JA, Chui F et al. Mechanism of proteinuria in diabetic nephropathy: A study of glomerular barrier function. *Kidney Int.* 1982; 21: 633-639.
27. Kverneland A, Feldt-Rasmussen B, Vidal P, et al. Evidence of changes in renal charge selectivity in patients with type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia.* 1986; 229: 634-639.
28. Pérez-Blanco FJ, Moreno G, Cantero J, Rodríguez Cuartero A. Urinary excretion of glycosaminoglycans in patients with diabetic nephropathy. *Nephron.* 1996; 73: 344-345.
29. Pérez-Blanco FJ, Sabatel G, Cantero J, Rodríguez Cuartero A. Urinary N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase excretion in non-insulin-dependent diabetes mellitus: relation with diabetic nephropathy. *Clin. Nephrol.* 1998; 49: 132-134.
30. Rodríguez Cuartero A, Barcelona-Martín F. Urinary B-glucuronidase excretion in insulin-dependent diabetes mellitus: relation with diabetes nephropathy. *Clin. Nephrol.* 1997; 48: 135.
31. Waters PJ, Flynn MD, Corral RJM et al. Increases in plasma lysosomal enzymes in Type I (insulin-dependent) diabetes mellitus: relationship to diabetic complications and glycaemic control. *Diabetologia.* 1992; 35:991-995.
32. Pérez-Blanco FJ, Ruiz Martín A, Moreno Terribas G. Urinary activity of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) in arterial hypertension. *Clin. Nephrol.* 1996; 45:65-66
33. Zafirouska KG, Bogdanouska SV. Urinary excretion of three specific renal tubular enzymes in patients treated with non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Ren. Fail.* 1993; 15:51-54.
34. Goi G, Fabi A, Lorenzi R et al. Serum enzymes of lysosomal origin as indicators of the metabolic control in diabetes: comparison with glycated hemoglobin and albumin. *Acta Diabetol. Lat.* 1986; 23:117-125.

35. Tchobrousky G. Relation of diabetic control to development of microvascular complications. *Diabetologia*. 1978; 15:143-152.
36. Jung K, Pergande M, Schimke E et al. Urinary enzymes and Low-molecular-mass proteins as indicators of diabetic Nephropathy. *Clin. Chem*. 1988; 34:544-547.
37. Stolarek I, Howey J.E.A, Fraser C. Biological variation of urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase: Practical and clinical implications. *Clin. Chem*. 1989; 35:560-563.
38. Koh KT, Chia KS, Tan C. Proteinuria and enzymuria in non-insulin-dependent diabetics. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 1993; 20:215-221.
39. Pérez-Blanco FJ, Manzanares L, Moreno G y cols. Microalbuminuria y NAG urinario en la nefropatía diabética. XIV Congreso Soc. Andaluza Medicina Interna Ubeda (Jaén) 1996.
40. Pérez-Blanco FJ, Sabatel Hernández G, Cantero J. Actividad urinaria del NAG en el hipertenso diabético. V Reunión Andaluza Hipertensión Arterial. Marbella. 1995.
41. Ratzmann KP, Schimke E, Jung K et al. Further evidence for tubular dysfunction in insulin dependent diabetes. *J. Diabet. Complications*. 1989; 3:167-171.
42. Wakisa Kam, Numoi K, Iwasem et al. Early development of nephropathy in a new model of spontaneously hypertensive rat with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1988; 31:291-296.
43. Jungmann E, Kruger K, Semler B et al. Nephroprotektive Wirkung von Ramipril. Einfluss von Blutdruck-und Stoffwechse-leinstellung bei Insulin-behandelten patienten mit Typ-2-Diabetes mellitus. *Fortschr. Med*. 1994; 112:39-42.
44. Holdaas H, Hartmann A, Berg KJ et al. Contrasting effects of angiotensin converting inhibitor and alpha-1-antagonist on albuminuria in insulin-dependent diabetes mellitus patients with nephropathy. *J. Intern. Med*. 1995; 237: 63-71.
45. Maruhn D, Gielow L, Bock KD. Differences of urinary enzyme excretion in essential and renal hypertension. *Proc. 6<sup>th</sup>. Int. Symp. Clin. Enzymol.* 1974; 1: 505-515.
46. Rao GM, Morghom LO, Abukhris AA. Serum beta-glucosidases in diabetes mellitus. *Clin. Physiol. Biochem*. 1998; 7: 161-164.
47. Burlina AB, Goi G, Fabi A, Lombardo A, et al. Behaviour of some lysosomal enzymes in the plasma of insulin dependent diabetic patients during artificial pancreas treatment. *Clin. Biochem*. 1987; 20: 423-427.
48. Goi G, Fabi A, Lorenzi R, Lombardo A, et al. Serum enzymes of lysosomal origin as indicators of the metabolic control in diabetes: comparison with glycated hemoglobin and albumin, *Acta. Diabetol. Lat.* 1986; 23: 117-125.
49. Messerli FH, Fhrollich DE, Dreslinski G et al. Serum uric acid in essential hypertension. *Ann. Intern. Med.* 1980; 93: 817-821.
50. Steassen J. The determinants and prognostic significance of serum acid in elderly patients of the European working party on high blood pressure the elderly trial. *Am. J. Med.* 1991; 90: 505-545.
51. Castelman B, Smithwick RH. The relation of vascular disease to the hypertensive state the adequacy of the renal biopsy as determined from a study af 500 patients. *N.Engl. J. Med.* 1984; 310: 729-732.
52. Mogensen CE. Glomerular filtration rate and renal plasma flow in normal and diabetic man during eievation of blood sugar levels. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1971; 28: 177-181.

53. **Altura BM, Halevy S, Turlapaty PDMV.** Vascular smooth muscle in diabetes and its influence on the reactivity of blood vessels. *Adv. Microcir.* 1979; 8: 118.
54. **Mogensen CE, Christiansen CK, Vittingus E et al.** The stages in diabetic renal disease. With emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy. *Diabetes.* 1983; 32 (suppl 2): 64-78.
55. **Viberti GC.** Early functional and morphological changes in diabetic nephropathy. *Clin. Nephrol.* 1979; 12: 47-53.
56. **Viberti GC, Keen H.** The patterns of proteinuria in diabetes mellitus. *Diabetes.* 1984; 73: 686-692.
57. **Mogensen CE, Christiansen CK.** Predicting diabetic nephropathy in insulin-dependent patients. *N. Engl. J. Med.* 1984; 311: 89-93.
58. **Abbot KC, Sanders LR, Backria GL.** Microalbuminuria in non-insulin-dependent diabetes mellitus. Implications for renal survival. *Arch. Intern. Med.* 1994; 24: 146-153.
59. **DCCT Research Group.** Diabetes control and complications trial: update. *Diabetes Care.* 1990; 13: 427-433.
60. **United Kingdom Propective Diabetes Study 17.** A 9-years update of a randomized, controlled trial on the effect of improved metabolic control on complications in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Ann. Intern. Med.* 1996; 124: 136-145.
61. **Hansen CH, Irmscher AK, Kuhlemann K, Beyer J, Kahaly.** Insulin dependent diabetes mellitus and glycosaminoglycans. *Horm. Metab. Res.* 1995; 27: 555-558.
62. **Brown DM, Charonis AS, Furcht LT, Klein DJ, Maner SM, Steffes MW, Tsihbarg PE.** An overview of role of matrix components. *Diabetes Care.* 1991; 14: 157-159.
63. **Maruhm D, Rosenstiel K, Hennewig K, Parr D.** Urinary excretion of  $\beta$ -glucuronidase, N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase,  $\alpha$ -glucosidase and trehalase in diabetes mellitus. *Z. Clin. Chem. Klin. Biochem.* 1974; 12: 263-266.
64. **Breborowicz A, Wieczorowska K, Martis L et al.** Glycosaminoglycans chondroitin sulphate prevents loss of ultrafiltrations during peritoneal dialysis in rats. *Nephron.* 1994; 67: 346-350.
65. **DCCT Research Group.** Diabetes control and complications trial: results of feasibility study. *Diabetes Care.* 1987; 10: 1-9.
66. **Monnier VM, Viswanath V, Frank KE et al.** Relation between complications of type I diabetes mellitus and collagen linked fluorescence. *N.Engl. J. Med.* 1986; 314: 403-408.
67. **Agardh CD, Agardh E, Isaksson A, Hultberg B.** Association between urinary N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase and its isoenzyme patterns and microangiopathy in tupe I diabetes mellitus. *Clin. Chem.* 1991; 37: 1696-1699.

# CONCLUSIONES

Tras los análisis pormenorizados de nuestros resultados, podemos extraer las siguientes conclusiones:

1. De los marcadores de lesión renal escogidos, solamente la actividad de la  $\beta$ -glucuronidasa y la excreción urinaria de GAG están alterados de forma significativa en todos los grupos de enfermos con nefropatía diabética.
2. La actividad urinaria de la  $\beta$ -glucuronidasa aumenta de forma progresiva conforme se deteriora la función renal en el paciente con nefropatía diabética, encontrando correlación con la creatinina cuando la afectación renal es ya evidente por la clínica.
3. La excreción urinaria de glucosaminoglicanos va en aumento en relación al grado de afectación del riñón del paciente diabético, aún en la nefropatía incipiente (Estadio I-II) y correlacionándose con la albuminuria en la nefropatía en Estadio III y IV.
4. Existe un paralelismo entre la actividad urinaria de la  $\beta$ -glucuronidasa y la excreción urinaria de glucosaminoglicanos con una correlación significativa entre ambos, en los diferentes estadios de la nefropatía diabética.
5. No encontramos correlación entre la  $\beta$ -glucuronidasa y GAG urinarios con la hemoglobina glicosilada, lo que nos hace suponer que de forma puntual, el control de la glucemia no repercute en la función de estos dos parámetros.
6. La determinación urinaria de  $\beta$ -glucuronidasa y GAG son parámetros útiles en el diagnóstico precoz de la nefropatía del paciente diabético, alterándose su eliminación urinaria en el Estadio I-II de la enfermedad renal.

# RESUMEN

Los glucosaminoglicanos (GAG) son cadenas de polisacáridos que forman parte de la matriz conectiva de los tejidos de diferentes órganos distinguiéndose 7 diferentes: ácido hialurónico, condroitín 4-sulfato, condroitín 6-sulfato, dermatán sulfato, queratán sulfato, heparán sulfato y heparina.

Son el heparán sulfato y el condroitín sulfato los que se eliminan fundamentalmente por la orina, procedentes del tejido conectivo renal, aumentando su excreción en diferentes procesos patológicos como glomerulonefritis, síndrome nefrótico, litiasis renal o tubulopatías tóxicas. También se ha observado una alteración de su excreción urinaria en aquellos procesos sistémicos con repercusión renal como son la hipertensión arterial o la diabetes mellitus.

En la diabetes mellitus se conoce que el aumento de la presión intraglomerular produce una alteración de la selectividad de carga a nivel de la membrana basal glomerular, activándose los enzimas lisosómicos N-acetil- $\beta$ -glucosaminidasa y  $\beta$ -glucuronidasa que degradan las moléculas de glucosaminoglicanos quedando la MBG deficitaria de estos y perdiendo su carga eléctrica negativa. De esta forma incrementaría el filtrado glomerular a moléculas como la albúmina. El final del proceso sería el aumento del tamaño de los poros de la MBG, perpetuando la presencia patológica de albúmina por la orina y estableciéndose una de las lesiones anatomopatológicas características de la nefropatía diabética.

Por tanto en el desarrollo inicial de la lesión renal del paciente diabético intervienen de forma importante los glucosaminoglicanos, que se pueden medir en su excreción urinaria, y los enzimas encargados de su catabolismo, siendo uno de los más importantes la  $\beta$ -glucuronidasa.

Nos proponemos por tanto cuantificar la excreción urinaria de GAG y la actividad urinaria de la  $\beta$ -glucuronidasa en un amplio grupo de pacientes diabéticos que hemos agrupado atendiendo al grado de afectación renal siguiendo la clasificación de Mogensen.

Hemos estudiado un total de 194 pacientes sujetos de los que 64 eran controles sanos y el resto pacientes diabéticos, distribuidos en: 55 pacientes con nefropatía en Estadio I-II, 43 pacientes en Estadio III y 32 pacientes en Estadio IV.

Se descartaron todos aquellos enfermos con nefropatía de otra índole (glomerulonefritis, otras nefropatías parenquimatosas, síndrome nefrótico, pielonefritis) así como a los que presentaban infección urinaria o hipertensión arterial que no fueran diabéticos. Tampoco fueron incluidos en el estudio los que estaban en tratamiento con IECA, aminoglicosidos, antiinflamatorios no esteroideos o ciclosporina.

La determinación de  $\beta$ -glucuronidasa se realizó en orina de 24 horas siguiendo el método basado en la hidrólisis enzimática de GOLDBARG (Gastroenterology 1959; 36: 192-199) y la de GAG por el método colorimétrico de PENNOCK (J. Clin. Pathol. 1976; 29: 111-123).

Se realizó estudio estadístico descriptivo para los diferentes grupos. Se comprobó la normalidad de las distintas variables cuantitativas mediante el test de Kolgonorow-Smirnoff. En los diferentes grupos se realizó el test de comparación de medias (t de Student) o el análisis de la varianza para una vía y los test no paramétricos (Kruskall-Wallis) cuando las variables no se ajustaban a la normalidad. Se aceptó significación para  $p < 0,05$ . La correlación entre las distintas variables cuantitativas se estudió mediante el coeficiente de correlación de Pearson, declarándose significativos para un valor absoluto de 0,35.

Según nuestros resultados se observa un incremento progresivo de la actividad de la  $\beta$ -glucuronidasa urinaria y de la excreción de GAG conforme aumenta el grado de afectación renal en los pacientes diabéticos.

Comparando los resultados obtenidos de ambos parámetros entre controles sanos y pacientes diabéticos se puede comprobar que existen diferencias significativas con la nefropatía Estadio I-II, Estadio III y Estadio IV con una  $p$  siempre inferior a 0,05.

También hemos encontrado diferencias significativas entre los grupos de diabéticos entre sí. Esta fue menor entre los Estadios III y IV tanto para la  $\beta$ -glucuronidasa como los GAG ( $p < 0,01$ ) y mas amplia entre los Estadio I-II y Estadio IV ( $p < 0,001$ ).

El estudio entre la correlación entre la  $\beta$ -glucuronidasa y GAG con el resto de los datos bioquímicos demostró que solamente existía correlación en el Estadio III con la creatinina urinaria y albuminuria (los GAG también para el aclaramiento de creatinina) y en Estadio IV con el ácido úrico sérico, creatinina urinaria, aclaramiento de creatinina y albuminuria.

Por último comprobamos que existía correlación entre  $\beta$ -glucuronidasa y GAG en todos los pacientes con nefropatía diabética, independiente del grado en que esta se encuentre.

De estos resultados podemos concluir que la determinación urinaria de la actividad de  $\beta$ -glucuronidasa y excreción de GAG son unos parámetros útiles para detectar precozmente los cambios funcionales y estructurales ocurridos en el riñón del paciente diabético, antes de que empiecen a aparecer las manifestaciones clínicas de la enfermedad. El aumento de la actividad de la  $\beta$ -glucuronidasa, enzima lisosómico que degrada los GAG, ocasiona una desestructuración de la MBG, perdiendo esta su carga negativa y favoreciendo la eliminación urinaria de glucosaminoglicanos.

# **INDICE**

## INDICE GENERAL

	Pags.
<b>▷ INTRODUCCION</b>	
<b><u>I.- NEFROPATIA DIABETICA</u></b>	
1.- DEFINICION .....	11
2.- ESTUDIO DE LA PREVALENCIA .....	12
BIBLIOGRAFIA .....	14
<b><u>II.- ETIOPATOGENIA DE LA NEFROPATÍA EN LA DIABETES MELLITUS</u></b>	
1.- FACTORES GENETICOS .....	17
2.- FACTORES HEMODINAMICOS .....	18
2.1. Hiperglucemia .....	19
2.2. Hormona del crecimiento y glucagón .....	19
2.3. Sistemas vasoactivos renales .....	19
2.4. Factor natriurético atrial .....	20
3.- FACTORES BIOQUIMICOS .....	21
4.- FACTORES HEMORREOLOGICOS Y HEMOSTATICOS ..	22
5.- FACTORES ENDOTELIALES .....	22
5.1. Factores relajantes .....	23
5.2. Factores contráctiles .....	24
BIBLIOGRAFIA .....	24
<b><u>III.-ALTERACIONES FUNCIONALES E HISTORIA NATURAL DE LA NEFROPATIA DIABETICA</u></b>	
1.- FASE PRECOZ .....	34
1.1. Hiperfiltración glomerular .....	34
1.2. Excreción de albúmina .....	36
1.3. Función tubular .....	37
2.- FASE DE TRANSICION .....	37
2.1. Microalbuminuria .....	38
2.2. Hiperfiltración glomerular .....	39
3.- FASE TARDIA .....	39
3.1. Hipofiltración glomerular .....	39
3.2. Proteinuria .....	40
3.3. Hipertensión .....	41
3.3.1. Expansión de volumen .....	42
3.3.2. Aumento de la reabsorción renal de sodio ....	42
3.3.3. Enfermedad renal terminal .....	42
4.- HISTORIA NATURAL .....	42
ETAPA I: HIPERTROFIA E HIPERFILTRACION GLOMERULAR .....	43
ETAPA II: LESIONES CON EXCRECION URINARIA DE ALBUMINA NORMAL .....	43
ETAPA III: NEFROPATIA DIABETICA CON ALBUMINURIA .....	43

ETAPA IV: NEFROPATIA DIABETICA MANIFIESTA ..	44
ETAPA V: FRACASO RENAL TERMINAL .....	45
BIBLIOGRAFIA .....	46
<b>IV.- ALTERACIONES DE LA MEMBRANA BASAL GLOMERULAR EN LA DIABETES MELLITUS</b>	
A.- ALTERACIONES ESTRUCTURALES Y QUIMICAS .....	52
B.- MECANISMOS PATOGENICOS .....	53
C.- CONSECUENCIAS FUNCIONALES .....	54
D.- REPERCUSION CLINICA .....	55
E.- PAPEL DE LOS GAG EN LA MEMBRANA BASAL GLOMERULAR .....	55
BIBLIOGRAFIA .....	57
<b>V.- GLUCOSAMINOGLICANOS (GAG)</b>	
1.-CARACTERISTICAS BIOQUIMICO-ESTRUCTURALES .....	64
A.- FUNCION .....	65
B.- BIOSINTESIS .....	71
C.- DEGRADACION .....	72
2.- GAG URINARIOS EN ENFERMEDADES RENALES Y SITEMICAS .....	73
1.- ENFERMEDADES NEFROUROLOGICAS .....	73
2.- ACCION DE CIERTOS FARMACOS Y TOXICOS ....	77
3.- HIPERTENSION ARTERIAL .....	78
4.- OTRAS ENFERMEDADES .....	78
BIBLIOGRAFIA .....	79
<b>VI.- BETA-GLUCURONIDASA</b>	
I.- BETA-GLUCURONIDASA .....	85
1.- FUNCIONES EN EL ORGANISMO .....	85
2.- HETEROGENICIDAD .....	86
3.- HORMONAS Y BETA-GLUCURONIDASA .....	87
•Beta-glucuronidasa y hormonas estrogénicas .....	87
•Beta-glucuronidasa y andrógenos .....	88
•Beta-glucuronidasa y hormonas tiroideas .....	88
4.- FACTORES QUE INFLUENCIAN LA ACTIVIDAD DE LA BETA-GLUCURONIDASA .....	88
• pH .....	88
•Temperatura .....	88
•Concentración del sustrato .....	88
•Concentración del enzima .....	88
•Inhibidores .....	89
•Activadores .....	89
5.- BETA-GLUCURONIDASA EN LOS ORGANISMOS VIVOS .....	89
6.- DISTRIBUCION INTRACELULAR .....	90
II.- BETA-GLUCURONIDASA URINARIA .....	94

ETAPA IV: NEFROPATIA DIABETICA MANIFIESTA ..	44
ETAPA V: FRACASO RENAL TERMINAL .....	45
BIBLIOGRAFIA .....	46
<b>IV.- ALTERACIONES DE LA MEMBRANA BASAL GLOMERULAR EN LA DIABETES MELLITUS</b>	
A.- ALTERACIONES ESTRUCTURALES Y QUIMICAS .....	52
B.- MECANISMOS PATOGENICOS .....	53
C.- CONSECUENCIAS FUNCIONALES .....	54
D.- REPERCUSION CLINICA .....	55
E.- PAPEL DE LOS GAG EN LA MEMBRANA BASAL GLOMERULAR .....	55
BIBLIOGRAFIA .....	57
<b>V.- GLUCOSAMINOGLICANOS (GAG)</b>	
1.- CARACTERISTICAS BIOQUIMICO-ESTRUCTURALES .....	64
A.- FUNCION .....	65
B.- BIOSINTESIS .....	71
C.- DEGRADACION .....	72
2.- GAG URINARIOS EN ENFERMEDADES RENALES Y SISTEMICAS .....	73
1.- ENFERMEDADES NEFROUROLOGICAS .....	73
2.- ACCION DE CIERTOS FARMACOS Y TOXICOS ....	77
3.- HIPERTENSION ARTERIAL .....	78
4.- OTRAS ENFERMEDADES .....	78
BIBLIOGRAFIA .....	79
<b>VI.- BETA-GLUCURONIDASA</b>	
I.- BETA-GLUCURONIDASA .....	85
1.- FUNCIONES EN EL ORGANISMO .....	85
2.- HETEROGENICIDAD .....	86
3.- HORMONAS Y BETA-GLUCURONIDASA .....	87
• Beta-glucuronidasa y hormonas estrogénicas .....	87
• Beta-glucuronidasa y andrógenos .....	88
• Beta-glucuronidasa y hormonas tiroideas .....	88
4.- FACTORES QUE INFLUENCIAN LA ACTIVIDAD DE LA BETA-GLUCURONIDASA .....	88
• pH .....	88
• Temperatura .....	88
• Concentración del sustrato .....	88
• Concentración del enzima .....	88
• Inhibidores .....	89
• Activadores .....	89
5.- BETA-GLUCURONIDASA EN LOS ORGANISMOS VIVOS .....	89
6.- DISTRIBUCION INTRACELULAR .....	90
II.- BETA-GLUCURONIDASA URINARIA .....	94

1.- ORIGEN DE LA BETA-GLUCURONIDASA URINARIA .....	94
2.- BETA-GLUCURONIDASA URINARIA EN CONDICIONES NORMALES .....	95
III.- BETA-GLUCURONIDASA URINARIA EN LA ENFERMEDAD .....	96
1.- BETA-GLUCURONIDASA URINARIA EN ENFERMEDADES EXTRARRENALES .....	96
•Diabetes Mellitus .....	96
•Hipertensión arterial .....	96
•Cirrosis hepática. ....	97
2.- BETA-GLUCURONIDASA URINARIA EN ENFERMEDADES RENALES .....	97
•Infecciones .....	97
•Glomerulonefritis agudas/crónicas y sínd. Nefrótico .....	98
•Neoplasias renales y de vías excretoras .....	98
•Trasplante renal .....	99
3.- AGENTES TOXICOS Y MEDICAMENTOSOS .....	100
4.- TRAUMATISMOS .....	101
BIBLIOGRAFIA .....	101
▮ HIPOTESIS Y OBJETIVOS .....	107
BIBLOGRAFIA .....	109
▮ MATERIAL .....	110
▮ METODO .....	115
♦ Determinaciones generales .....	116
♦ Determinaciones especiales .....	117
* Microalbuminuria .....	117
* Beta-glucuronidasa .....	117
* GAG .....	118
♦ Análisis estadístico .....	120
♦ Método bibliográfico .....	121
♦ Método de redacción y estilo .....	122
BIBLOGRAFIA .....	123
▮ RESULTADOS .....	125
CASUISTICA .....	126
ESTUDIO ESTADISTICO .....	147
▮ DISCUSION .....	190
BIBLIOGRAFIA .....	200
▮ CONCLUSIONES .....	204
▮ RESUMEN .....	206
▮ INDICES .....	208
* Indice general .....	210
* Indice de tablas .....	213
* Indice de figuras .....	215
* Indice de abreviaturas .....	217

## INDICE DE TABLAS

	Pags	
- Tabla I .....	Composición de la matriz intersticial glomerular en la nefropatía diabética .....	53
- Tabla II .....	Distribucion orgánica de la beta-glucuronidasa .....	91
- Tabla III.....	Enzimas presentes en los lisosomas .....	92
- Tabla IV.....	Actividad beta-glucuronidasa urinaria normal: diferencias según sexo .....	95
- Tabla V.....	Estadios de la nefropatía diabética .....	112
- Tabla VI .....	Límites de referencia y conversión en unidades "si".....	123
- Tabla VII .....	Sujetos controles sanos .....	127
- Tabla VIII .....	Sujetos controles sanos .....	129
- Tabla IX .....	Sujetos controles sanos .....	131
- Tabla X .....	Nefropatía Estadio I-II .....	133
- Tabla XI .....	Nefropatía Estadio I-II .....	135
- Tabla XII .....	Nefropatía Estadio I-II .....	137
- Tabla XIII .....	Nefropatía Estadio III .....	139
- Tabla XIV .....	Nefropatía Estadio III .....	141
- Tabla XV .....	Nefropatía Estadio IV .....	143
- Tabla XVI .....	Nefropatía Estadio IV .....	145
- Tabla XVII .....	Distribución de la edad en los diferentes grupos estudiados .....	149
- Tabla XVIII .....	Distribución según el sexo en los grupos estudiados .....	150
- Tabla XIX .....	Estudio de la urea sérica en los grupos estudiados .....	151
- Tabla XX .....	Comparación de la urea sérica entre los diferentes grupos .....	152
- Tabla XXI .....	Acido úrico sérico en los diferentes grupos estudiados ....	153
- Tabla XXII .....	Comparación del ácido úrico entre los diferentes grupos .	154
- Tabla XXIII.....	Creatinina sérica en los diferentes grupos estudiados .....	155
- Tabla XXIV.....	Comparación de la creatinina sérica entre los diferentes grupos.....	156
- Tabla XXV .....	Creatinina urinaria en los diferentes grupos estudiados ..	157
- Tabla XXVI.....	Comparación de la creatinina urinaria entre los diferentes grupos.....	158
- Tabla XXVII .....	Aclaramiento de creatinina en los diferentes grupos estudiados.....	159
- Tabla XXVIII .....	Comparación del aclaramiento de creatinina entre los diferentes grupos .....	160
- Tabla XXIX.....	Albuminuria en los diferentes grupos estudiados .....	161
- Tabla XXX.....	Comparación de la albuminuria entre los diferentes grupos.....	162
- Tabla XXXI.....	Hemoglobina glicosilada en los diferentes grupos estudiados .....	163
- Tabla XXXII .....	Comparación de la hemoglobina glicosilada entre los diferentes grupos .....	164
- Tabla XXXIII .....	Beta-glucuronidasa en los diferentes grupos estudiados .	165
- Tabla XXXIV .....	Comparación de la beta-glucuronidasa entre controles sanos	

	y pacientes con nefropatía diabética .....	166
- Tabla XXXV .....	Comparación de la beta-glucuronidasa entre controles sanos y pacientes con nefropatía diabética Estadio I-II.....	167
- Tabla XXXVI .....	Comparación de la beta-glucuronidasa entre controles sanos y pacientes con nefropatía diabética Estadio III.....	168
- Tabla XXXVII .....	Comparación de la beta-glucuronidasa entre controles sanos y pacientes con nefropatía diabética Estadio IV .....	169
- Tabla XXXVIII .....	Comparación de la beta-glucuronidasa entre pacientes con nefropatía diabética Estadio I-II y Estadio III.....	170
- Tabla XXXIX .....	Comparación de la beta-glucuronidasa entre pacientes con nefropatía diabética Estadio I-II y Estadio IV.....	171
- Tabla XL .....	Comparación de la beta-glucuronidasa entre pacientes con nefropatía diabética Estadio III y Estadio IV.....	172
- Tabla XLI .....	Glucosaminoglicanos en los diferentes grupos estudiados	173
- Tabla XLII .....	Comparación de los glucosaminoglicanos entre controles sanos y pacientes con nefropatía diabética .....	174
- Tabla XLIII .....	Comparación de los glucosaminoglicanos entre controles sanos y pacientes con nefropatía diabética Estadio I-II...	175
- Tabla XLIV.....	Comparación de los glucosaminoglicanos entre controles sanos y pacientes con nefropatía diabética Estadio III .....	176
- Tabla XLV .....	Comparación de los glucosaminoglicanos entre controles sanos y pacientes con nefropatía diabética Estadio IV .....	177
- Tabla XLVI .....	Comparación de los glucosaminoglicanos entre pacientes con nefropatía diabética Estadio I-II y Estadio III.....	178
- Tabla XLVII .....	Comparación de los glucosaminoglicanos entre pacientes con nefropatía diabética Estadio I-II y Estadio IV .....	179
- Tabla XLVIII .....	Comparación de los glucosaminoglicanos entre pacientes con nefropatía diabética Estadio III y Estadio IV.....	180
- Tabla IL .....	Beta-glucuronidasa: correlación con las diferentes variables en controles sanos .....	181
- Tabla L .....	Beta-glucuronidasa: correlación con las diferentes variables en los pacientes con nefropatía diabética Estadio I-II .....	182
- Tabla LI .....	Beta-glucuronidasa: correlación con las diferentes variables en los pacientes con nefropatía diabética Estadio III .....	183
- Tabla LII .....	Beta-glucuronidasa: correlación con las diferentes variables en los pacientes con nefropatía diabética Estadio IV .....	184
- Tabla LIII .....	Glucosaminoglicanos: correlación con las diferentes variables en controles sanos .....	185
- Tabla LIV .....	Glucosaminoglicanos: correlación con las diferentes variables en los pacientes con nefropatía diabética Estadio I-II .....	186
- Tabla LV .....	Glucosaminoglicanos: correlación con las diferentes variables en los pacientes con nefropatía diabética Estadio III.....	187
- Tabla LVI .....	Glucosaminoglicanos: correlación con las diferentes variables en los pacientes con nefropatía diabética Estadio IV .....	188
- Tabla LVII.. ....	Correlación entre la beta-glucuronidasa y glucosaminoglicanos	189

## INDICE DE FIGURAS

	Pags
- <b>Figura 1</b> ..... Dermatan Sulfato.....	66
- <b>Figura 2</b> ..... Heparina .....	67
- <b>Figura 3</b> ..... Heparán Sulfato .....	68
- <b>Figura 4</b> ..... Chondroitín Sulfato .....	69
- <b>Figura 5</b> ..... Queratán Sulfato .....	70
- <b>Figura 6</b> ..... Biosíntesis y degradación del ácido hialurónico .....	74
- <b>Figura 7</b> ..... Distribución de la edad en los diferentes grupos estudiados.	149
- <b>Figura 8</b> ..... Distribución según el sexo en los grupos estudiados .....	150
- <b>Figura 9</b> ..... Urea sérica en los diferentes grupos estudiados .....	151
- <b>Figura 10</b> ..... Acido úrico sérico en los diferentes grupos estudiados .....	153
- <b>Figura 11</b> ..... Creatinina sérica en los diferentes grupos estudiados .....	155
- <b>Figura 12</b> ..... Creatinina urinaria en los diferentes grupos estudiados .....	157
- <b>Figura 13</b> ..... Aclaramiento de creatinina en los diferentes grupos estudiados.....	159
- <b>Figura 14</b> ..... Albuminuria en los diferentes grupos estudiados .....	161
- <b>Figura 15</b> ..... Hemoglobina glicosilada en los diferentes grupos estudiados.	163
- <b>Figura 16</b> ..... Beta-glucuronidasa en los diferentes grupos estudiados .....	165
- <b>Figura 17</b> ..... Beta-glucuronidasa: comparación entre controles sanos y pacientes con nefropatía diabética .....	166
- <b>Figura 18</b> ..... Beta-glucuronidasa: comparación entre controles sanos y pacientes con nefropatía diabética Estadio I-II.....	167
- <b>Figura 19</b> ..... Beta-glucuronidasa: comparación entre controles sanos y pacientes con nefropatía diabética Estadio III.....	168
- <b>Figura 20</b> ..... Beta-glucuronidasa: comparación entre controles sanos y pacientes con nefropatía diabética Estadio IV .....	169
- <b>Figura 21</b> ..... Beta-glucuronidasa: comparación entre pacientes con nefropatía diabética Estadio I-II y Estadio III.....	170
- <b>Figura 22</b> ..... Beta-glucuronidasa: comparación entre pacientes con nefropatía diabética Estadio I-II y Estadio IV.....	171
- <b>Figura 23</b> ..... Beta-glucuronidasa: comparación entre pacientes con nefropatía diabética Estadio III y Estadio IV.....	172
- <b>Figura 24</b> ..... Glucosaminoglicanos en los diferentes grupos estudiados ...	173
- <b>Figura 25</b> ..... Glucosaminoglicanos: comparación entre controles sanos y pacientes con nefropatía diabética .....	174
- <b>Figura 26</b> ..... Glucosaminoglicanos: comparación entre controles sanos y pacientes con nefropatía diabética Estadio I-II.....	175
- <b>Figura 27</b> ..... Glucosaminoglicanos: comparación entre controles sanos y pacientes con nefropatía diabética Estadio III .....	176
- <b>Figura 28</b> ..... Glucosaminoglicanos: comparación entre controles sanos y pacientes con nefropatía diabética Estadio IV .....	177
- <b>Figura 29</b> ..... Glucosaminoglicanos: comparación entre pacientes con nefropatía diabética Estadio I-II y Estadio III.....	178
- <b>Figura 30</b> ..... Glucosaminoglicanos: comparación entre pacientes con nefropatía diabética Estadio I-II y Estadio IV .....	179

- **Figura 31** ..... Glucosaminoglicanos: comparación entre pacientes  
con nefropatía diabética Estadio III y Estadio IV..... 180

- **Figura 32**..... Correlación entre beta-glucuronidasa y glucosaminoglicanos. 189

- **Figura 33**..... Evolución de los cambios de la MBG en la nefropatía  
diabética ..... 193

## INDICE DE ABREVIATURAS

* AGE .....	Avanced glycosylation endproducts.
* AH .....	Acido hialurónico.
* AINE .....	Antiinflamatorio no esterideo.
* ATP .....	Adensin trifosfato.
* CPC .....	Cetil-Piridinilo-Cloruro.
* CS .....	Condroitín sulfato.
* DCCT .....	Grupo de Investigación del Control de la Diabetes.
* DS .....	Dermatán sulfato.
* ECA.....	Enzima de conversión de angiotensina.
* EDRF .....	Endotelium derived relaxing factor.
* FA .....	Fosfatasa alcalina.
* FGF .....	Factor de crecimiento de los fibroblastos.
* GAG.....	Glucosaminoglicanos.
* Gamma GT .....	Gamma glutamil transpeptidasa.
* Hna .....	Heparina.
* HS .....	Heparán sulfato.
* HS-PG.....	Heparán sulfato proteínoglicanos.
* HTA .....	Hipertensión arterial.
* LAP .....	Leucín amino peptidasa.
* LDH .....	Láctico deshidrogenasa.
* MB .....	Membrana basal.
* MBG .....	Membrana basal glomerular.
* NAG.....	N-acetil- $\beta$ -glucosaminidasa.
* PAPS .....	3' fosfoadenosina 5' fosfosulfato.
* PG .....	Proteínoglicanos.
* PS .....	Polisacaridos.
* QS .....	Queratán sulfato.
* RIA .....	Radioinmunoanálisis.
* TGF- $\beta$ .....	Trasforming growth factor- $\beta$ .
* UDP .....	Uridín-difosfato.
* USRD .....	United States Renal Data.